

**Klinische Prüfung zum Einfluss der ischämischen
Fern-Präkonditionierung auf die Genexpression bei
herzchirurgischen Patienten**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Nora Mühle
geboren am 23.02.1984 in Großenhain (Sachsen)

Gutachter

1. Prof. Dr. med. Torsten Doenst, Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie,
Universitätsklinikum Jena
2. Prof. Dr. med. Michael Bauer, Klinik für Anästhesiologie und
Intensivmedizin, Universitätsklinikum Jena
3. Prof. Dr. med. Sebastian Stehr, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und
Intensivtherapie, Universitätsklinikum Leipzig

Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.09.2017

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
1. Einleitung	3
1.1. Einführung in die Thematik	3
1.2. Historischer Rückblick und heutige Bedeutung der Herz-Lungen-Maschine	4
1.3. Die extrakorporale Zirkulation und ihre Folgen	6
1.4. Entzündungsreaktionen im Rahmen der extrakorporalen Zirkulation	7
1.5. Die Präkonditionierung	9
1.5.1. Pharmakologische Präkonditionierung	10
1.5.2. Ischämische Präkonditionierung	11
1.5.3. Fern- (Remote-) Präkonditionierung	11
1.6. Die RIP-Heart-Studie	13
2. Ziele der Arbeit	15
3. Material und Methoden	16
3.1. Studiendesign	16
3.1.1. RIP-Heart	16
3.1.2. Studie zur Genexpressionsanalyse	16
3.2. Klinische Daten	17
3.3. Patienten	18
3.4. Ein- und Ausschlusskriterien	18
3.5. Narkose	19
3.6. Ablauf der ischämischen Fern – Präkonditionierung	20
3.7. Blutprobengewinnung	21
3.8. RNA – Isolation aus dem Vollblut	21
3.9. Genexpressionsanalyse mittels Oligonukleotid-Mikroarray	22
3.10. Statistische Analyse	28
4. Ergebnisse	30
4.1. Demographische Daten der Kontroll- und Interventionsgruppe	30
4.2. Globale und zeitspezifische Effekte der ischämischen Präkonditionierung	32
4.3. Potentiell relevante Transkripte beider Probandengruppe	38
4.3.1. Relevante Transkripte der in Kontrollgruppe	39
4.3.2. Relevante Transkripte in der Interventionsgruppe	40
4.4. Betrachtung der einzelnen Proben	41
4.4.1. Erste Probe - Kontroll- vs. Interventionsgruppe	41

4.4.2. Zweite Probe - Kontroll- vs. Interventionsgruppe.....	42
4.4.3. Dritte Probe - Kontroll- vs. Interventionsgruppe.....	43
4.5. Korrelationen	44
4.5.1. Kontrollgruppe – erste Probe	45
4.5.2. Kontrollgruppe – zweite Probe	46
4.5.3. Kontrollgruppe – dritte Probe	47
4.5.4. Interventionsgruppe – erste Probe	48
4.5.5. Interventionsgruppe – zweite Probe	49
4.5.6. Interventionsgruppe – dritte Probe	50
5. Diskussion	51
5.1. Einfluss der HLM auf den Organismus	51
5.2. Einfluss der ischämischen Fernpräkonditionierung	52
5.3. HBZ als möglicher Indikator einer erfolgreichen Präkonditionierung	54
5.4. Einfluss äußerer Faktoren auf die Präkonditionierung.....	56
5.5. Mögliche Fehlerquellen.....	58
6. Schlussfolgerung	61
7. Literatur- und Quellenverzeichnis	62
8. Anhang	73
8.1. Ehrenwörtliche Erklärung.....	73
8.2. Lebenslauf	74
8.3. Danksagung.....	75

Abkürzungsverzeichnis

APC	anästhetikainduzierte Präkonditionierung	LDL	Low Density Lipoprotein
ARDS	acute respiratory distress syndrome	MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
BE	Blutentnahme	MIP-1 β	Macrophage inflammatory protein 1beta
°C	Grad Celsius	miRNA	mikroRibonukleinsäure
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure	MOV	Multiorganversagen
CKLF	Chemokine-Like Factor	Nm	Nanometer
CO ₂	Kohlenstoffdioxid	OFF-PUMP	ohne Verwendung der Herzlungenmaschine
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung	ON-PUMP	unter Verwendung der Herzlungenmaschine
CPB	Cardiopulmonary bypass	pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
DEG	Differentiell exprimierte Gene	POCD	postoperativen kognitiven Dysfunktion
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung	proBNP	Vorläufer (inaktives) natriuretisches Peptid Typ B
DTT	Dithiothreitol		
EKZ	extrakorporale Zirkulation		
FEV1	Einsekundenkapazität	P 1 – 3 PTGS2.1	Probe 1 bis 3 Prostaglandin- endoperoxide synthase 2
G-CSF	Granulozyten-Kolonie stimulierende	RIPC	remote ischemic preconditioning
HIT II	heparininduzierte Thrombozytopenie Typ 2	RNA RPS	Ribonukleinsäure ribosomal protein subunit
HLA	Human Leukocyte Antigen	SIRS	systemic inflammatory response syndrome
HLM	Herz-Lungen-Maschine	SPSS	Statistical Package of the Social Sciences
ICAM	interzelluläre Adhäsionsmoleküle	STAT 1	signal Transducers and Activators of Transcription 1
IE	internationale Einheit	TIVA	totale intravenöse Anästhesie
IFN- γ	Interferon- γ	TNF- α	Tumornekrosefaktor- alpha
IL	Interleukin		
IL8RB 1	Interleukin 8 Rezeptor Beta	ZKS	Zentrum für klinische Studien
kDa	Kilo-Dalton		
KOF	Körperoberfläche		

Zusammenfassung

Bereits Ende des 19. Jahrhunderts wurden die ersten herzchirurgischen Eingriffe durch Ludwig Rehn am Menschen durchgeführt. Aufgrund diverser Komplikationen betrug dabei die Mortalität meist weit über 60%. Trotz enormer Fortschritte in allen Bereichen der Medizin beträgt die Mortalität je nach Art der Operation und den individuellen Risikofaktoren nach herzchirurgischen Operationen auch heute noch bis zu 10%. Prä-, peri- und postoperative Myokardischämien, sowie zahlreiche pathophysiologische Veränderungen unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine (pulmonale Komplikationen, Aktivierung der Entzündungs-, Komplement- und Koagulationskaskaden uvm.) stellen dabei die bedeutendsten lebenslimitierenden Faktoren dar. Um das Herz und den gesamten Organismus auf derartige Belastungen besser vorzubereiten und vor Ischämie-Reperfusionsschäden zu schützen, wurden bereits Versuche mit Hilfe der sog. „ischämischen Fern-Präkonditionierung“ durchgeführt. Als potenziell adjuvante Therapie werden hierbei kurzzeitige Phasen myokardialer Ischämien erzeugt, die keine irreparablen Schädigungen des Herzmuskelgewebes hervorrufen. Die Mechanismen der Präkonditionierung sollen die Ischämietoleranz des Myokards erhöhen und somit das Ausmaß der Zellschäden minimieren. Bei der ischämischen Fern-Präkonditionierung wird dabei nicht direkt das eigentliche Zielorgan der Ischämie präkonditioniert, sondern ein anderer Körperteil bzw. der gesamte Organismus. Das eigentliche Zielorgan wird dann durch die systemischen Effekte, dieses bis heute noch nicht vollständig verstandenen Prozesses geschützt. Als Teil einer prospektiven, randomisierten und multizentrischen Studie wurde der Einfluss einer absichtlich induzierten, wiederholten ischämischen Fern-Präkonditionierung auf die Genexpression verschiedener Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren in Leukozyten untersucht. Des Weiteren ist untersucht worden, ob durch eine derartige Intervention systemische Entzündungsreaktionen nach einer herzchirurgischen Operation im ON-PUMP-Verfahren, also unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) verändert sind. Dazu wurde vor Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine mittels einer Blutdruckmanschette an einem Oberarm eine 5-minütige Kompression, gefolgt von einer 5-minütigen Dekompression, erzeugt. Dieses Vorgehen wurde viermal wiederholt. Um vergleichende Messergebnisse zu gewinnen, wurden die Patienten randomisiert einer Kontroll- (n= 7) bzw. Interventionsgruppe (n= 5) zugeteilt. In der Interventionsgruppe erfolgte die Fernpräkonditionierung verblindet am linken oder rechten Oberarm, bei der Kontrollgruppe an einem Dummyarm. Nach

Vollendung der ischämischen Fernpräkonditionierung wurden drei Blutentnahmen durchgeführt: die erste Probe (P1) präoperativ unmittelbar nach Kompression und Dekompression der Blutdruckmanschette, die zweite Probe (P2) 30 Minuten nach Abgang der Herzlungenmaschine und die dritte Probe (P3) am ersten postoperativen Tag auf der Intensivstation. Die jeweils drei gewonnenen Proben wurden auf eine veränderte Genexpression untersucht. In einer ersten deskriptiven Statistik wurden zunächst die im Folgenden aufgeführten und für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit relevanten Gene näher betrachtet (CKLF1, HLA-B, HLA-F1, HLA-H1, IL8, IL8.1, IL8RB, IL8RBP, PTGS2.1, STAT 1, RPS26 und HBZ). Es zeigte sich, dass die Expression einer großen Gruppe von Transkripten durch die ischämische Fernpräkonditionierung beeinflusst wird. Dabei sind insbesondere die inflammatorischen Mediatoren betroffen. Jedoch scheinen die vielfältigen Prozesse unter der Verwendung der HLM auch eine große Bedeutung zu haben. So konnte nicht sicher nachgewiesen werden, inwieweit die beobachteten Effekte auf die Konditionierung oder auf die HLM zurückzuführen sind. Eine Ausnahme dabei ist das Hämoglobin zeta. HBZ ist ein stark sauerstoffaffiner, embryonaler und fetaler Hämoglobintyp, der besonders unter Stress verstärkt exprimiert wird. Wir konnten eine gegenüber der Kontrollgruppe signifikant gesteigerte Expression zu allen drei Abnahmezeitpunkten in der Interventionsgruppe nachweisen. Unsere Genexpressionsprofile zeigten bei präkonditionierten Patienten Hinweise für eine abgeschwächte Entzündungsreaktion sowie eine Reduktion ribosomaler Transkripte. Damit konnte nachgewiesen werden, dass die ischämische Fernpräkonditionierung einen Einfluss auf die Genexpression hat. Inwieweit die gemessenen Effekte jedoch zusätzlich durch die HLM getriggert und verschleiert werden, lässt sich abschließend nicht sicher beurteilen.

1. Einleitung

1.1. Einführung in die Thematik

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems, dazu gehören u.a. Herzinsuffizienz, Vorhofflattern und -flimmern, waren im Jahr 2010 der häufigste Grund für Aufenthalte in Krankenhäusern Deutschlands (Destatis 2012). Die chronisch ischämische Herzkrankheit, der akute Myokardinfarkt und die Herzinsuffizienz gehörten dabei zu den drei häufigsten Todesursachen in Deutschland (Destatis 2012). 43% der jährlichen Todesursachen fallen auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen zurück (Nöthen 2009). An Kreislauferkrankungen versterben insbesondere ältere Menschen über dem 65. Lebensjahr. Die Kosten der Behandlung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen waren mit 15% am höchsten, gefolgt von Erkrankungen des Verdauungstraktes, psychischen Erkrankungen, Verhaltensstörungen und Erkrankungen des muskuloskelettalen Systems (Nöthen 2009). Die degenerativen Veränderungen der Herzkranzgefäße durch Anlagerung arteriosklerotischer Plaques führen oftmals zu einer Limitation der Belastbarkeit und machen einen stationären Aufenthalt mit einhergehender Diagnostik und operativer Therapie meist unumgänglich. Die invasive Therapie der HKL-Erkrankungen mit dem Ziel der Revaskularisierung minderversorgten Gewebes ist dabei sehr unterschiedlich. Sie richtet sich nach dem Stadium der Erkrankung und reicht von Koronarangioplastien über Thrombolysetherapien bis hin zur operativen Versorgung. 2014 wurden in Deutschland 416.574 Eingriffe am Herzen durchgeführt, bei denen insgesamt 79.428 koronare Bypassoperationen waren (Destatis 2015). Trotz enormer Fortschritte in allen Bereichen der Medizin, beträgt die Mortalität nach herzchirurgischen Eingriffen je nach Art der Operation und Risikofaktoren immer noch bis zu 10%. (Lu et al. 2008, Eagle et al. 2004, Paparella et al. 2003). Perioperativ auftretende kardiovaskuläre Komplikationen im Sinne einer myokardialen Ischämie infolge des intraoperativen Herzstillstandes an der HLM stellen dabei einen wichtigen Risikofaktor dar. Daher sollte v.a. im Rahmen herzchirurgischer Eingriffe eine Myokardischämie verhindert werden, um die postoperativ auftretenden kardialen Komplikationen und die Langzeitprognose von Morbidität und Mortalität möglichst gering zu halten (Landesberg et al. 1993). Um dieses zu erreichen versucht man, das Herz durch eine Präkonditionierung vor Ischämie-Reperfusionsschäden im Sinne der Kardioprotektion vor der Auswirkung der HLM zu schützen (Konstantinov et al. 2004).

1.2. Historischer Rückblick und heutige Bedeutung der Herz-Lungen-Maschine

Der erste herzchirurgische Eingriff erfolgte bereits Ende des 19. Jahrhunderts durch Ludwig Rehn. Ihm gelang es, eine Herzstichverletzung durch eine direkte Herznaht zu verschließen (Böttcher et al. 2003). In den darauffolgenden Jahren erfolgten weitere erste Operationen am Herzbeutel und am Herz- und Gefäßsystem. Diese Eingriffe erfolgten zunächst alle am schlagenden Herzen. Bigelow und Gibbon gelang jedoch 1950 der entscheidende Durchbruch. Bigelow entwickelte 1950 die Oberflächenhypothermie (Bigelow et al. 1950), während Gibbon 1953 die erste extrakorporale Zirkulation durchführte (Böttcher et al. 2003, Cordell 1995). Somit war es ab diesem Zeitpunkt, durch die Kombination beider Verfahren, möglich, am stillgelegten und nichtschlagenden Herzen zu operieren. Die erstmalige Verwendung der Herz-Lungen-Maschine in Deutschland erfolgte 1958 zum Verschluss eines Ventrikelseptumdefektes in Marburg durch R. Zenker (Bock 2003).

Heutzutage ist der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (HLM) zur Überbrückung der Pumpfunktion des Herzens und der Gasaustauschfunktion der Lunge unentbehrlich und stellt mittlerweile ein Routineverfahren bei Operationen am kardioplegischen Herzen dar. Sie wird bei einer Vielzahl von Eingriffen, wie zum Beispiel bei Herzklappen- oder aortakoronaren Bypassoperationen, Herz-Lungen-Transplantationen oder operativen Eingriffen an der Aorta im Sinne eines Aorta ascendens Ersatzes, eingesetzt. In den 80 Herzzentren in Deutschland wurden 2009 insgesamt 86.916 Herzoperationen mit HLM und weitere 75501 Fälle ohne HLM durchgeführt. Knapp 50% der Patienten mit Eingriffen unter Verwendung der HLM waren dabei über 70 Jahre (Bruckenberg 2010).

Um Operationen am Herzen durchzuführen, ist die HLM bei vielen Operationen meist unumgänglich. Diese übernimmt während des Eingriffes die kardiopulmonale Funktion und ermöglicht somit ein präzises Arbeiten am nicht schlagenden Herzen. Durch den Einsatz der HLM wird die Zirkulation des Blutes, die Anreicherung des Blutes mit Sauerstoff bei gleichzeitiger Elimination von Kohlenstoffdioxid und auch die Wärmeregulation intraoperativ gewährleistet (Lauterbach G. 2002).

Um das sauerstoffarme Blut in ein venöses Reservoir abzuleiten, wird die Vena cava superior oder inferior bzw. der rechte Vorhof kanüliert (Lorenz D. 2002). Somit kann das Blut entlang der Schwerkraft abfließen und aufgefangen werden. Vom Reservoir ausgehend wird es mit Hilfe der Rollerpumpe zum Oxygenator transportiert. Das CO₂-

gereinigte, temperaturregulierte und oxygenierte Blut gelangt dann vom Oxygenator über einen arteriellen Filter und die Kanülierung eines arteriellen Gefäßes (Aorta ascendens) zurück in das Gefäßsystem (Lauterbach G. 2002) (**Abbildung 1**).

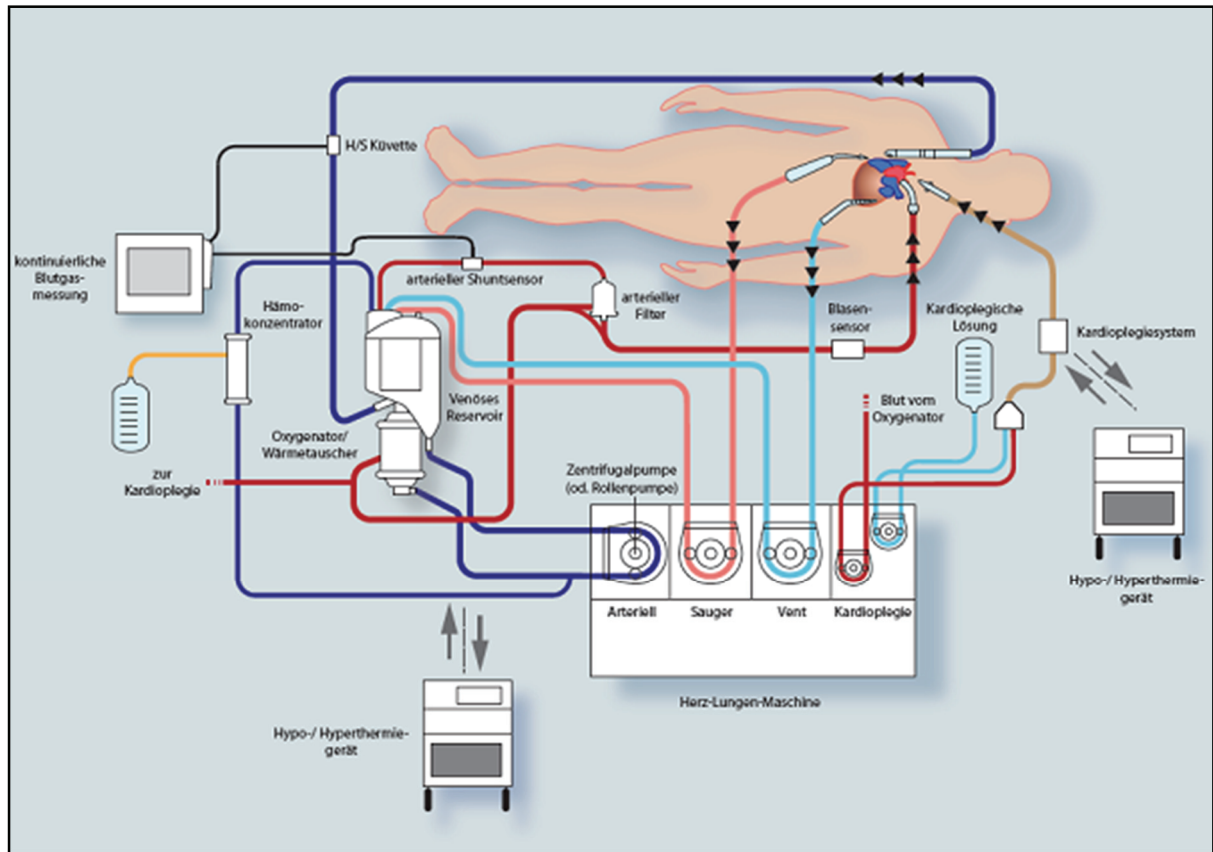


Abb. 1: Schematische Darstellung der HLM (Kardiotechnik 2010)

Weiterhin bedarf es einem pharmakologisch induzierten, reversiblen Herzstillstand. Dabei wird in die Herzkranzgefäße eine kalte, kardioplege Lösung injiziert, welche sich im koronaren System verteilt und durch Veränderung der Elektrolytverhältnisse einen künstlichen Herzstillstand erzeugt (Melrose et al. 1955). Durch die myokardprotektiven Eigenschaften der kardioplegen Lösung mit gleichzeitiger Senkung des Sauerstoffverbrauches wird die ischämische Schädigung des Herzmuskels minimiert und der Schutz des Herzens während der prä-, intra- und postischämischen Phase gewährleistet (Bretschneider 1980). Ein zusätzliches Verfahren zur Myokardprotektion ist die künstlich herbeigeführte milde Hypothermie. Die Abkühlung des Herzmuskels setzt den Energiebedarf und die Stoffwechselaktivität herab und verlängert somit die Ischämietoleranz des Herzens (Pietschmann 1996).

Die Kombination aus extrakorporaler Zirkulation und Kardioplegie ermöglicht es so, am blutleeren, stillstehenden Herzen zu operieren und gewährleistet somit dem Operationsteam optimale Bedingungen.

1.3. Die extrakorporale Zirkulation und ihre Folgen

Die Risiken, die die extrakorporale Zirkulation unter Verwendung der HLM mit sich bringt, wurden frühzeitig erkannt und beschrieben. Bereits 1958 berichteten Kolff et al. über schwerwiegende pulmonale Komplikationen nach Eingriffen mit der HLM (Kolff et al. 1958). Dazu zählten u.a. eine postoperative Hyperkapnie, eine Druckerhöhung im pulmonalen Kreislauf als auch die Entwicklung eines postoperativen Lungenödems durch Steigerung der Permeabilität der Lungenkapillaren (Norlander et al. 1958, Bücherl 1961, Asimakopoulos und Taylor 1998).

Trotz stetiger Verbesserung der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) bleiben neurologische und kognitive Defizite nach herzchirurgischen Operationen als signifikante und häufige Komplikation bestehen. In einer Studie von Roach et al. wurden als Folge des aorto-koronaren Bypasses Schlaganfall, Stupor und die Verschlechterung intellektueller Fähigkeiten (Gedächtnisdefizite, Krampfanfälle) mit einem durchschnittlichen Auftreten von 3 % angegeben (Roach et al. 1996). Patienten, die bereits präoperativ eine cerebrale Ischämie erlitten, hatten ein erhöhtes Risiko für ein erneutes, cerebrales Ereignis (Taggart und Westaby 2001). Ramlawi und seine Mitarbeiter untersuchten 2007 in einer Studie das Auftreten einer postoperativen kognitiven Dysfunktion (POCD) nach Anwendung der EKZ und konnten einen Zusammenhang mit einer veränderten Genexpression von inflammatorischen-, Zelladhäsions- und Apoptosegenen herstellen (Ramlawi et al. 2007). Anhand einer geschätzten Zahl von insgesamt einer Million weltweit jährlich durchgeführter Herzoperationen (Wolman et al. 1999), kann man von einer großen Bedeutung zentralnervöser Komplikationen ausgehen.

Des Weiteren kann es durch Verwendung der EKZ zu Nierenfunktionsstörungen kommen (Stallwood et al. 2004), deren Ausmaß wiederum von verschiedenen Faktoren abhängig ist. Das Alter, das Geschlecht, die COPD und die Herzinsuffizienz zählen zu den patientenabhängigen Faktoren, während die Operationsart und die Länge der HLM-Zeit zu den operationsabhängigen Parametern gehören (Doddakula et al. 2007). Die Nierenschädigung reicht dabei von einem leichten Kreatininanstieg

bis hin zur Dialysepflichtigkeit (Stallwood et al. 2004, Yehia et al. 2005, Doddakula et al. 2007). Die Anzahl der Neuerkrankungen für akute Nierenschäden nach herzchirurgischen Eingriffen liegen definitionsabhängig bei 1-30%, von denen 1-5% der Patienten dialysepflichtig werden (Lassnigg et al. 2008, Rosner und Okusa 2006).

1.4. Entzündungsreaktionen im Rahmen der extrakorporalen Zirkulation

Im Rahmen der EKZ treten zahlreiche pathophysiologische Veränderungen auf, die die Inzidenz für weitere peri- und postoperative Komplikationen erhöhen. So kommt es durch den Kontakt von heparinisierten Patientenblut mit den nicht-endothelialen Fremdoberflächen der HLM, wie beispielsweise der Schläuche, zur Auslösung einer allgemeinen Entzündungsreaktion (Laffey et al. 2002, Kirklin et al. 1983, el Habbal et al. 1997). Die Aktivierung der Entzündungs-, Komplement- und Koagulationskaskade sowie des fibrinolytischen Systems sind die Folge. Erhöhte Konzentrationen von Mediatoren (z.B. Zytokine, Leukotriene, Adhäsionsmoleküle, Anaphylatoxine, Stickstoffmonoxid) und von zellulären Komponenten (z.B. neutrophile Granulozyten, Monozyten, Thrombozyten, Lymphozyten und Endothelzellen) im Plasma halten die Aktivierung aufrecht (Asberg und Videm 2006, el Habbal et al. 1997). Weitere Faktoren die für die Auslösung und Aufrechterhaltung der systemischen Entzündung verantwortlich sind, sind neben der HLM auch endotoxämische Prozesse durch Hypoperfusion im Splanchnikusgebiet (Landow und Andersen 1994) und die Entwicklung eines Ischämie- und Reperfusionssyndrom (Hall et al. 1997). Veränderungen von Entzündungsmediatoren, wie beispielsweise Zytokine oder Leukozytenadhäsionsmoleküle lassen sich bei nahezu allen Patienten nachweisen, die sich einer herzchirurgischen Operation mit extrakorporaler Zirkulation unterzogen (Deng et al. 1995, Cremer et al. 1996, Steinberg et al. 1995).

Zytokine sind Signalproteine mit einem Molekulargewicht von 5 bis 70 kDa und gehören der humoralen Immunabwehr an. Ihre hormonähnliche Wirkung am Zielort erzielen sie durch eine para- oder autokrine Signalübermittlung. Im humanen Serum sind Zytokine unter normalen Umständen nur in geringen Konzentrationen zu finden (Greten 2010; 13. Auflage), da sie ihre Wirkung überwiegend lokal entfalten. Zytokine werden in verschiedene Familien unterteilt, zu denen unter anderem die Interleukine, Chemokine, Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α), Interferon- γ (IFN- γ) und Granulozyten-Kolonie stimulierende Faktoren (G-CSF) gehören. Während das Zytokin

IL-10 eine systemische antiinflammatorische Wirkung aufweist, haben die Zytokine IL-6, IL-1 β , IL-8 und TNF- α eine proinflammatorische Wirkung und können als endogene Pyrogene eine Akut-Phase-Reaktion auslösen, die bei starker Ausprägung zu einem *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) mit pulmonaler und renaler Dysfunktion, hämodynamischer Instabilität bis zum Schock, acute respiratory distress syndrome (ARDS) oder einer disseminierten intra-vasalen Gerinnung (DIC) führen kann (Tonnesen et al. 1996).

In einer Studie von 2005 untersuchten Schippers und seine Mitarbeiter die Zytokine IL-10 und TNF-alpha bei elektiven Herzoperationen und wiesen eine inflammatorische Immunantwort infolge einer Ischämie-Reperfusionsphase nach (Schippers et al. 2005). Auch andere Autoren untersuchten die negativen Auswirkungen der Herzlungenmaschinen sowohl intra- als auch postoperativ und beschrieben in ihren Studien das Phänomen der systemischen inflammatorischen Reaktion (SIRS), welches zu schwerwiegenden Komplikationen, wie dem meist letal verlaufenden Multiorganversagen (Kilimov), führen kann und die postoperative Morbidität und Mortalität ansteigen lässt (Hensel et al. 1998, Westaby 1983, Khabar et al. 1997).

IL-6 wird als Hauptmediator der Akute-Phase-Reaktion in Verbindung mit der kardialen Funktion beschrieben. Risnes et. al untersuchten prä-, peri- und postoperativ die IL-6 Konzentrationen von 22 Patienten, die eine Operation unter Verwendung der EKZ erhielten. Darunter waren 14 Kinder und acht Erwachsene. Bei 36% der Patienten zeigte sich ein fehlender Rückgang des IL-6-Spiegels, sodass diese letztendlich unter der Therapie verstarben. Bei 64% der Patienten konnte ein schnelles Absinken der IL-6-Konzentrationen innerhalb von zwei Tagen nach der Operation beobachtet werden. Diese überlebten den Eingriff ohne weitere Folgen. Somit können persistierend hohe IL-6 Konzentrationen in Zusammenhang mit einem negativen klinischen Outcome betrachtet werden (Risnes et al. 2008).

Eine Studie von Tomic et al. untersuchte außerdem die molekularen Mechanismen der Inflammation im OFF- und ON-Pump-Verfahren. In diese Studie wurden ebenfalls 22 Patienten eingeschlossen, die sich einer koronaren Bypassoperation unterzogen. Präoperativ nach Narkoseeinleitung, unmittelbar nach der Hautnaht und 24 Stunden postoperativ erfolgte eine Blutentnahme. Die entnommenen Proben wurden auf Interleukine, TNF-alpha, Interferon-gamma, Wachstumsfaktoren und Chemokine untersucht. Man konnte zeigen, dass einerseits Zytokine wie IL-5, IL-7, IL-13 und IL-17 durch die chirurgische Intervention infolge des Stresses nicht verändert wurden,

während andere Zytokine (TNF-alpha, IL-10, MCP-1, MIP-1 β) durch den Kontakt mit der HLM hochreguliert wurden. Bei weiterer Betrachtung fiel auf, dass das proinflammatorische IL-6 und Interferon-gamma, sowohl im ON- als auch im OFF-Pump-Verfahren, verstärkt exprimiert wurden, allerdings mit unterschiedlichem Zeitverlauf: bei Verwendung der HLM konnte bereits während der Operation eine erhöhte Expression nachgewiesen werden, während bei Operationen mit Verzicht auf die HLM erst am ersten postoperativen Tag ein Anstieg zu beobachten war (Tomic et al. 2005).

1.5. Die Präkonditionierung

Die Präkonditionierung ist ein Schutzmechanismus, der in Organen mit hohem Energiebedarf- und verbrauch wie dem Herz (Murry et al. 1986), der Lunge (Li et al. 2001), den Nieren (Torras et al. 2002), dem Gehirn (Heurteaux et al. 1995) und der Leber (Beck-Schimmer et al. 2008, Abu-Amara et al. 2011) beobachtet und nachgewiesen wurde. Die Präkonditionierung beruht dabei auf einem komplexen Zusammenspiel verschiedener Triggerfaktoren und Mediatoren. Diese sind momentan noch nicht vollständig aufgedeckt und verstanden. Vereinfacht ausgedrückt kommt es aufgrund einer bewusst induzierten Stresssituation für das jeweilige Zielorgan der Präkonditionierung zu einer gewissen „Abhärtung“. Durch diesen Trainingseffekt wird der gesamte Organismus und das jeweilige Organsystem auf die Ischämie und Reperfusion, z.B. im Rahmen einer Herzoperation mit Verwendung der HLM, vorbereitet. Die Mechanismen der Präkonditionierung sollen die Ischämietoleranz der verschiedenen Organe erhöhen und somit die Inzidenz der Zellschäden minimieren. Davon könnten Patienten mit instabiler Angina pectoris, erhöhtem Infarktisiko oder aortokoronaren Bypassoperationen besonders profitieren (Iglesias-Garriz et al. 2001). Nach bisherigem Kenntnisstand werden zwei Phasen der Präkonditionierung unterschieden. Dabei handelt es sich um die „Frühe“ und die „Späte“ Präkonditionierung. Die frühe Phase der Protektion wird auch als klassische Präkonditionierung (early preconditioning) bezeichnet. Sie setzt innerhalb weniger Minuten ein und hält 2-3 Stunden an. Während der Phase der frühen Präkonditionierung werden bereits synthetisierte Mediatoren aktiviert. So ist eine schnelle, aber nur kurz anhaltende Protektion möglich (Rizvi et al. 1999). Die späte Phase oder auch „Zweites Fenster der Protektion“ (late preconditioning) tritt nach ca.

24 Stunden auf. Der protektive Effekt hält hier noch bis zu drei bis vier Tage an (Kuzuya et al. 1993, Bolli 2000). Hier spielt die Neusynthese und anschließende Aktivierung der protektiven Proteine die Hauptrolle. Prinzipiell kann zwischen einer pharmakologischen Präkonditionierung und einer ischämischen Präkonditionierung unterschieden werden. Diese sollen in den folgenden Abschnitten näher erläutert werden.

1.5.1. Pharmakologische Präkonditionierung

Die Induktion einer Präkonditionierung im Herzen kann durch Medikamente wie Adenosin (Liu et al. 1991), Katecholamine (Banerjee et al. 1993), Bradykinin (Jin und Chen 1998, Feng et al. 2005), Opiate (Schultz et al. 1996) oder verschiedene volatile Anästhetika (Cope et al. 1997), wie Sevofluran (Toller et al. 1999), Isofluran (Kersten et al. 1997, Toller et al. 2000a) oder Desfluran (Toller et al. 2000b) hervorgerufen werden. Letztere wird als anästhetikainduzierte Präkonditionierung (APC) bezeichnet und lässt sich bei elektiven Bypassoperationen beobachten (Garcia et al. 2005). Warltier et al. zeigte bereits 1988 an Hunden, dass die Gabe von Halothan bzw. Isofluran zu einer Besserung der Myokardfunktion nach einer Koronarokklusion führte (Warltier et al. 1988). Auch für Sevofluran konnte eine positive Beeinflussung bezüglich des postoperativen proBNP-Anstieges und der Nierenfunktion nachgewiesen werden. Somit wiesen präkonditionierte Patienten nach Bypassoperationen eine bessere Herz- und Nierenleistung auf als Nicht-Präkonditionierte (Julier et al. 2003). Die APC konnte seither in verschiedenen Tierspezies sowie an menschlichen Herzmuskelzellen nachgewiesen werden (Roscoe et al. 2000, Novalija et al. 1999). In der Literatur findet man außerdem zahlreiche klinische Studien, die den Einfluss der pharmakologischen Präkonditionierung an Patienten untersuchten (Belhomme et al. 1999, De Hert et al. 2002, Guarracino et al. 2006). Allerdings sind in diesen Studien vorzugsweise Surrogatparameter der Kardioprotektion, wie beispielsweise Troponin, erhoben wurden. In Bezug auf Myokardischämien, Myokardinfarkte, Dauer des Krankenhausaufenthaltes und Tod ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen (Symons und Myles 2006). In der Klinik spielt die pharmakologische Präkonditionierung eine untergeordnete Rolle, denn Studien können bislang keinen Effekt auf das klinische Outcome der Patienten bestätigen.

1.5.2. Ischämische Präkonditionierung

Bei der ischämischen Präkonditionierung werden kurzzeitige Phasen myokardialer Ischämien erzeugt, die keine irreparablen Schädigungen des Herzmuskelgewebes hervorrufen (Heusch und Schulz 1996). Vielmehr konnte bei einer Versuchsreihe an Hundeherzen durch Murry et al. gezeigt werden, dass es durch die repetitiven, kurzen Zyklen koronarer Okklusion und Reperfusion vor einer langanhaltenden Ischämie zu einer gesteigerten Resistenz und Adaptation des Myokards kommt (Murry et al. 1986). Dieses Phänomen der ischämischen Präkonditionierung führt zu einer Reduktion des myokardialen Schadens und ist folglich Ausdruck der protektiven Endstrecke (Murry et al. 1990). Ziel ist es also, die Widerstandsfähigkeit des Herzens durch wechselnde Zyklen von Ischämie und Reperfusion zu erhöhen und beispielsweise Infarkte bzw. Infarktgröße (Ali et al. 2007, Kuzuya et al. 1993) und Arrhythmien (Kaszala et al. 1996) zu reduzieren. Durch Deutsch et al. wurde 1990 die erste, ischämische Präkonditionierung am menschlichen Herzgewebe durchgeführt und auch Arstall et al. zeigten 1998 in vitro protektive Effekte an isolierten, humanen Herzmuskelzellen sowohl durch klassische als auch durch späte Präkonditionierung auf (Deutsch et al. 1990, Arstall et al. 1998).

1.5.3. Fern- (Remote-) Präkonditionierung

Die ischämische Fern-Präkonditionierung ist ein Prozess, bei dem nicht direkt das eigentliche Zielorgan der Ischämie präkonditioniert wird. Es wird eine Ischämie eines anderen Körperteils durchgeführt. Das Zielorgan wird dennoch durch systemische Effekte geschützt. Bis heute sind die Mechanismen der Fern-Präkonditionierung noch nicht hinreichend geklärt. In einer klinisch, randomisierten Studie von Cheung et al. im Jahr 2006 konnten erstmals Effekte der Fernpräkonditionierung beobachtet werden (Cheung et al. 2006). In diese Studie wurden 37 Kinder mit einem Herzfehler eingeschlossen, die sich einer kardiochirurgischen Operation unterzogen. Die Präkonditionierung wurde dabei durch eine Blutdruckmanschette induziert, die präoperativ viermal á 5 Minuten aufgepumpt wurde. Als Endpunkte wurden die prä- und postoperative Zytokinveränderung, die Troponinwerte und die Lungenmechanik gewählt. Nach Beendigung und Auswertung der Patientendaten konnte belegt werden,

dass die Kinder in der präkonditionierten Gruppe (17 Kinder) einen geringeren myokardialen Schaden erlitten, weniger positiv-inotrope Substanzen postoperativ benötigten und die Resistance der Lunge postoperativ deutlich geringer war. Gegenwärtig geht man davon aus, dass verschiedene Triggerfaktoren (Adenosin, Bradykinin, Opioide und Calcitonin Gene Related Protein) endogene Protektionsmechanismen auslösen, die mit einer erhöhten ischämischen Toleranz einhergehen (Hausenloy und Yellon 2008). Dies konnte in einer Studie von Hausenloy et al. 2007 gezeigt werden, in welcher Patienten, durch eine mehrmalige 5-minütige Kompression und Dekompression einer Blutdruckmanschette am Oberarm, bis zu drei Tagen postoperativ einen signifikant erniedrigten Serum-Troponin T - Spiegel aufwiesen (Hausenloy et al. 2007). Einen weiteren positiven Effekt des *remote ischemic preconditioning* (RIPC) zeigte eine Studie mit 82 Patienten, die eine elektive Operation eines Bauchaortenaneurysmas erhielten. Primäres Augenmerk wurde dabei auf eine Veränderung der Troponin I – Spiegel als Zeichen eines myokardialen Schadens und auf den Kreatininwert als Hinweis auf eine Nierenschädigung gelegt. Das Ergebnis brachte eine um 22%-ige niedrigere Häufigkeit an Myokardinfarkten, 27% weniger myokardiale Schäden und eine Verminderung von Niereninsuffizienzen um 23% (Ali et al. 2007). Auch Hoole und Mitarbeiter zeigten in ihrer Studie 2009, dass eine Fern-Präkonditionierung den Troponin I - Spiegel bei Patienten nach einem elektiven Herzkathetereingriff verringert und die Inzidenz kardiovaskulärer Komplikationen bis sechs Monate nach dem Eingriff herabsetzt (Hoole et al. 2009). Kharbanda et al. berichteten, dass durch eine Fernpräkonditionierung beim Menschen eine verminderte inflammatorische Zellaktivität und eine verminderte endotheliale Dysfunktion auftraten (Kharbanda et al. 2001, Kharbanda et al. 2002) .

Eine andere Studie hingegen widerlegte den Einfluss der RIPC bezüglich eines myokardialen Schadens und einer Entzündungsreaktion und entfernt sich von der Aussage des unmittelbaren Einfluss auf die Kardioprotektion. Dafür wurden 95 Patienten untersucht, die sich einer nicht notfallmäßigen perkutanen Koronarintervention unterzogen (Prasad et al. 2013). Auch Rahman et al. konnten 2010 bei koronaren Bypassoperationen keinen Einfluss der RIPC auf eine verminderte Induktion eines Myokardschadens oder eine Verbesserung der Nieren- oder Lungenfunktion zeigen (Rahman et al. 2010). Auch Choi und seine Mitarbeiter untersuchten 76 Patienten und führten 3 Zyklen 10-minütiger Ischämie mit Hilfe einer Druckmanschette durch. Die Kreatininwerte zeigten keine Unterschiede zwischen der

Interventions- und Kontrollgruppe. Die Präkonditionierung hatte also keinen Einfluss auf die Entwicklung des akuten Nierenversagens (Choi et al. 2011).

Trotz den unterschiedlichen Studienaussagen scheint die ischämische Fernkonditionierung einen positiven Effekt auf das postoperative Outcome der Patienten zu haben (Cheung et al. 2006, Ali et al. 2007). Bisher wurde in keiner Studie die Auswirkung der ischämischen Präkonditionierung auf die Genexpression der wahrscheinlich an den Effekten beteiligten Mediatoren untersucht. Bisherige Endpunkte in anderen Studien waren z.B. die Verschlechterung der Nierenfunktion oder die Veränderung von verschiedenen Laborparametern wie Troponin T, Kreatinin sowie verschiedene Zytokine.

1.6. Die RIP-Heart-Studie

Im Oktober 2015 wurde die sog. Remote-ischaemic-preconditioning for heart surgery Studie (RIP-Heart-Studie), eine prospektive, multizentrische, randomisierte, doppelblind kontrollierte klinische Studie, veröffentlicht. In diese Studie wurden insgesamt 1403 Erwachsene eingeschlossen, die sich von Januar 2011 bis Mai 2014 einer elektiven Herzoperation unter Verwendung der HLM, unterzogen. Eine weitere Voraussetzung für die Teilnahme war eine totale intravenöse Anästhesie unter Verwendung des Hypnotikums Propofol. Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob die bewusst herbei geführte Ischämie an einem Oberarm zu einer Verbesserung der klinischen Ergebnisse nach einem Eingriff am Herzen führt. Um das zu beurteilen, wurden die Patienten randomisiert einer Kontroll- und Interventionsgruppe zugeteilt. Bei den Patienten der Interventionsgruppe (n= 703) erfolgte ein viermaliges Aufpumpen einer Blutdruckmanschette am Oberarm für jeweils fünf Minuten, gefolgt von einer fünfminütigen Dekompression. Bei der Kontrollgruppe (n= 701) erfolgte das Aufpumpen der Blutdruckmanschette an einem Dummyarm. Somit wurde gewährleistet, dass nur in der Interventionsgruppe eine Ischämie im Sinne einer Fernpräkonditionierung induziert wurde. Als primäre Endpunkte wurden der Tod unabhängig von seiner Ursache, das Auftreten von Myokardinfarkten und Schlaganfällen als auch das Vorkommen eines akuten Nierenversagens betrachtet. Weiterhin wurde u.a. auch jedes neu aufgetretene postoperative Vorhofflimmern, die Inzidenz für ein postoperatives Delir als auch die Dauer des Krankenhausaufenthaltes beurteilt. Da man bereits in vielen anderen Untersuchungen einen positiven Effekt der

ischämischen Fernpräkonditionierung nachweisen konnte, erhoffte man, bedeutende Resultate mit dieser Studie zu erlangen. Allerdings konnte in der RIP-Heart-Studie kein Einfluss der ischämischen Fernpräkonditionierung auf die untersuchten Endpunkte gezeigt werden. Beim Vergleich der Interventions- und Kontrollgruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den primären Endpunkten 90 Tage nach erfolgtem herzchirurgischem Eingriff. Auch in Bezug auf Troponinveränderungen, Dauer der mechanischen Beatmung, die Dauer des Aufenthalts auf der Intensivstation oder in der Klinik, das Neuauftreten von Vorhofflimmern und die Inzidenz eines postoperativen Delirs lieferten keine signifikanten Ergebnisse (Meybohm et al. 2015).

2. Ziele der Arbeit

Ziel der vorliegenden Studie war es, bei einer Subgruppe von Patienten der RIP-Heart-Studie, zu untersuchen, ob es einen Zusammenhang zwischen der ischämischen Fern- (Remote-) Präkonditionierung (RIPC) und einer dadurch bedingten Veränderung der Genexpression verschiedener Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren gibt. Weiterhin sollte in diesem Zusammenhang geklärt werden, ob eine derartige Intervention systemische Entzündungsreaktionen nach einer herzchirurgischen Operation unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine reduzieren oder möglicherweise sogar verhindern kann. So könnten durch vergleichsweise einfache, nichtinvasive und kostengünstige Maßnahmen vielen Patienten Komplikationen erspart und das Outcome herzchirurgischer Operationen verbessert werden. Um ein möglichst großes Spektrum an potentiell relevanten Genen erfassen zu können, sollten zunächst mittels Microarray-Analyse insgesamt 17.540 Gene untersucht werden. Aus der Fülle der gewonnenen Messwerte sollten im Anschluss, die für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit relevante Datensätze ausgewählt und detailliert betrachtet werden. Es sollten insgesamt 12 Patienten aus der RIP-Heart-Studie, die sich einer elektiven Herzoperation unterziehen mussten, betrachtet werden. Die Patienten wurden randomisiert einer Kontroll- und einer Interventionsgruppe zugeteilt. Die Arbeitshypothese ist, dass der Einsatz der ischämischen Fern-Präkonditionierung zu einer verminderten Expression proinflammatorischer Gene und damit zu einem protektiven Effekt führt. Dabei sollten verschiedene Einflussfaktoren wie die biometrischen Parameter der Probanden, die HLM - Bypasszeit, die Aortenklemmzeit sowie die Körpertemperatur mit berücksichtigt und entsprechende Korrelationen erarbeitet werden.

3. Material und Methoden

3.1. Studiendesign

3.1.1. RIP-Heart

Die RIP-Heart Studie ist eine prospektive, randomisierte und multizentrische Studie, in die erwachsene Patienten mit elektivem, herzchirurgischen Eingriff unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine einbezogen wurden. Die involvierten Ärzte, Patienten und Prüfer waren hinsichtlich der Intervention stets verblindet. Ziel dieser RIP-Heart Studie war es, zu untersuchen, ob das präoperative Aufpumpen einer Blutdruckmanschette an einem Arm zu Veränderungen im postoperativen Verlauf führt. Betrachtet wurden dabei einerseits primäre Endpunkte wie beispielsweise die Gesamtmortalität, Myokardinfarkte und neu aufgetretene Schlaganfälle als auch sekundäre Endpunkte wie u.a. neu aufgetretenes Vorhofflimmern oder die Dauer des Intensiv- bzw. Krankenhausaufenthaltes. Insgesamt wurden 1404 Patienten im Alter von 18 bis 90 Jahren einbezogen. Dabei wurden 703 Patienten der Interventions- und 701 Patienten der Kontrollgruppe zugeordnet. Vor Studienbeginn wurden Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt.

3.1.2. Studie zur Genexpressionsanalyse

In der hier durchgeführten Untersuchung wurde eine Subgruppe von Patienten der RIP-Heart Studie ausgewählt. Diese unterzogen sich ebenfalls einer elektiven, herzchirurgischen Operation unter Verwendung der HLM. Durch die randomisierte Zuordnung der Patienten in eine Interventions- und Kontrollgruppe sollten eventuell auftretende Störgrößen einheitlich auf beide Gruppen verteilt werden. Die Interventionsgruppe umfasste fünf, die Kontrollgruppe sieben Patienten. Um zu beurteilen, ob das präoperative Aufpumpen einer Blutdruckmanschette an einem Arm zu Veränderungen der Genexpression führt, erfolgten drei Blutentnahmen zu definierten Zeitpunkten: die erste präoperativ (P1) unmittelbar nach Durchführung der Intervention, die zweite (P2) 30 min nach Abgang der HLM und die dritte (P3) am Morgen des ersten postoperativen Tages. Die entnommenen Blutproben (P1-3) wurden hinsichtlich ihrer Genexpression in Form veränderter Expression von Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren untersucht. Die Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen denen der RIP-Heart Studie.

3.2. Klinische Daten

Die demographischen Daten, wie Alter, Geschlecht, Risikofaktoren, Vorerkrankungen und Ausprägung der Herzerkrankung wurden der Patientenakte entnommen, die Körperoberfläche (Borod et al.) aus den Daten der Abteilung für Kardiotechnik. Die notwendigen Daten des intraoperativen Verlaufs (HLM-Zeit, Aortenklemmzeit, tiefste Temperatur) wurde von Kardiotechnikern dokumentiert und aus den Dokumenten übernommen. Im OP-Bericht fand man entsprechende Angaben zur Art des operativen Eingriffes, verwendete Materialien und ggf. stattgehabte Revisionen. Die labor- und biochemischen Parameter der Studienpatienten wurden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Jena bestimmt und konnten daraus übernommen werden.

In die Studie wurden insgesamt 12 Patienten eingeschlossen, die sich einer elektiven herzchirurgischen Operation unter Verwendung der HLM unterzogen. Sieben der 12 (58%) wurden in die Kontrollgruppe eingeschlossen, die anderen fünf (42%) wurden durch das Aufpumpen einer Blutdruckmanschette ischämisch fernpräkonditioniert (Interventionsgruppe).

Es sollte nun innerhalb dieser beiden Gruppen beurteilt werden, ob es zu einer Verminderung der inflammatorischen Antwort auf die HLM auf Grund der ischämischen Fernpräkonditionierung kommt. Dazu wurde zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten Blutproben (P1-3) gewonnen:

1. in Narkose nach "Remote Ischemic Preconditioning" (erste Blutprobe; P1)
2. 30 min nach Abgang der HLM (zweite Blutprobe; P2)
3. erster postoperativer Tag morgens 8:00 Uhr (dritte Blutprobe; P3)

Auf Grund fehlender Blutentnahmen fällt die Gruppenstärke bei der zweiten Blutprobe mit zehn Probanden geringer aus. Daher ergibt sich für die zweite Blutprobe (P2) eine Patientenzahl in der Kontrollgruppe von sechs und in der Interventionsgruppe von vier Probanden.

3.3. Patienten

Nach Genehmigung zur Durchführung der Studie durch die Ethikkommission wurden die Patienten aus dem stationären Patientengut des Universitätsklinikums Jena rekrutiert. Nach ausführlicher Aufklärung, Erläuterung des Studienablaufes und Einholen des mündlichen und schriftlichen Einverständnisses konnten die Messungen erfolgen. Weiterhin wurden die Patienten auch über die Veröffentlichung der Daten in anonymisierter Form aufgeklärt. Außerdem wurde betont, dass die Teilnahme an der Studie freiwillig ist und jederzeit die Möglichkeit zum Abbruch besteht.

Die rekrutierten Patienten, neun Männer sowie drei Frauen im Alter von 40 bis 72 Jahren, waren auf Grund einer chronischen Herzerkrankung eingewiesen worden. Die Intervention aller Patienten erfolgte stets durch dieselbe Person, um Fehlerquellen zu vermeiden.

Die Registrierung und Randomisierung der Patienten erfolgte durch das Zentrum für Klinische Studien in Leipzig. Damit wurde gewährleistet, dass personengebundene Störgrößen gleichmäßig auf die Interventions- bzw. Kontrollgruppe verteilt und der Effekt der systematischen Verzerrung minimiert wurde.

3.4. Ein- und Ausschlusskriterien

Die Auswahlkriterien für die Teilnahme an der Untersuchung wurden vor Studienbeginn festgelegt. Folgende Kriterien mussten erfüllt werden, um in die Studie eingeschlossen zu werden.

Einschlusskriterien:

- Vollendung des 18. Lebensjahres
- elektiver herzchirurgischer operativer Eingriff im ON-PUMP-Verfahren
- schriftliche Einverständniserklärung

Ausschlusskriterien:

- OFF-PUMP-Verfahren, d.h. eine Operation unter Verzicht auf eine Herz-Lungen-Maschine (HLM)
- minimalinvasive Eingriffe über eine laterale Thorakotomie
- operative Eingriffe an der Arteria carotis oder der Aorta descendens
- antegrade Hirnperfusion während eines HLM - Stillstandes
- ein Myokardinfarkt innerhalb der letzten 7 Tage
- eine Ejektionsfraktion $\leq 30\%$
- Vorhofflimmern in den letzten 6 Monaten
- eine antiarrhythmische medikamentöse Therapie
- ein Herzschrittmacher
- instabile Angina pectoris innerhalb der letzten 24 Stunden präoperativ mit präoperativem Troponinanstieg
- ein Apoplex innerhalb der letzten 2 Monate
- schwere Leber- oder Nierenerkrankungen
- schwerer Alkoholabusus
- eine chronisch, obstruktive Lungenerkrankung (COPD) mit FEV1 $\leq 50\%$
- eine medikamentöse Therapie mit Sulfonylharnstoffen, Neuroleptika oder Nicorandil zum Zeitpunkt der Operation
- akute Infektionen (Leukozytenzahl von $< 20.000 \text{ Tsd./}\mu\text{l}$ oder CRP $> 30 \text{ mg/l}$) mit antibiotischer Therapie
- eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) Stadium III und IV nach Fontaine an der oberen Extremität
- eine Heparin-induzierte-Thrombozytopenie Typ II (HIT II)
- vorausgegangene Armgefäß-Operationen, Lymphödem, arteriovenöse Fisteln oder Shunts
- Kreatininwert $\geq 2,0 \text{ mg/dL}$
- neurologische Vorerkrankungen, wie zum Beispiel Morbus Parkinson, Multiple Sklerose, Epilepsie, Morbus Alzheimer, präoperatives Delir

3.5. Narkose

Alle randomisierten Patienten erhielten nach standardgemäßer oraler Prämedikation mit 3,75mg Midazolam eine totale intravenöse Anästhesie (TIVA). Diese beinhaltet, dass während des gesamten operativen Eingriffes die Medikamentenapplikation direkt über die Vene erfolgt. Eine inhalative Narkose mittels volatilen Anästhetika wurde nicht genehmigt, da diese unter Umständen selbst präkonditionierende Effekte auslösen könnten und dadurch die Studienergebnisse hätten verfälscht werden können. Zur Narkoseeinleitung wurde als Standardmedikation das Analgetikum Sufentanil (0,5µg/kg KG), das Hypnotikum Disoprivan (2mg/kg KG) und das Muskelrelaxans Pancuroniumbromid (0,1mg/kg KG) verwendet. Nach erfolgter orotrachealer Intubation erfolgte die Anlage eines Blasenverweilkatheters und einer Magensonde. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte mittels Sufentanil (0,5-1,5µg/kg/h) und Disoprivan (3-6mg/kg/h). Als erweitertes Monitoring erhielten die Patienten eine arterielle Verweilkanüle, die eine kontinuierliche Blutdrucküberwachung und eine problemlose Blutentnahme gewährleistete.

3.6. Ablauf der ischämischen Fern – Präkonditionierung

Das Aufpumpen einer Blutdruckmanschette erfolgte unmittelbar nach der Narkoseeinleitung in der Interventionsgruppe am rechten oder linken Oberarm der Patienten und in der Kontrollgruppe an einem Dummyarm. Die Blutdruckmanschette wurde dafür mit einem Druck von 200mmHg versehen, musste aber mindestens 20mmHg höher als der systolische arterielle Druck sein. Die Dauer der Kompression betrug jeweils 5 Minuten und wurde auf einem separaten Blatt dokumentiert. Der 5-minütigen Kompression folgte eine 5-minütige Reperfusionsphase, in der die Blutdruckmanschette einen Druck von 0mmHg aufweisen sollte. Die Phasen der Kompressionen und Dekompressionen wurde jeweils viermal wiederholt. Somit betrug die Dauer der Intervention insgesamt 40 Minuten. Es wurde darauf geachtet, dass die Intervention vor Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine stets abgeschlossen war. Durch das Aufpumpen der Blutdruckmanschette an einem Dummyarm wurde eine tatsächliche Kompression vorgetäuscht, eine tatsächliche Ischämie jedoch vermieden. Um die Verblindung der Studie zu gewährleisten, wurden die beiden Blutdruckmanschetten am Patienten- und am Dummyarm mit Operationstüchern abgedeckt. Unverblindet war nur das Personal, welches die Intervention durchführte.

3.7. Blutprobengewinnung

Unmittelbar nach Vollendung der Intervention und vor Anschluss der Herz-Lungen-Maschine erfolgte die erste Blutentnahme (P1) aus der Arteria radialis beim nüchternen Patienten. Eine zweite Blutentnahme (P2) erfolgte eine halbe Stunde nach Abgang der Herz-Lungen-Maschine. Die dritte und letzte Blutentnahme (P3) erfolgte am Morgen (8:00 Uhr) des ersten postoperativen Tages auf der Intensivstation. Für diese Blutentnahmen wurden spezielle Röhrchen, die für die Molekulardiagnostik geeignet sind, verwendet. Diese PAXgene-Röhrchen fassen ein Volumen von 2,5ml und ermöglichen eine Blutentnahme mit gleichzeitiger Stabilisierung und Isolierung von Gesamt-RNA aus dem Vollblut. Die zelluläre RNA wird dabei durch ein Additiv stabilisiert und somit eine Standardisierung von Genexpressionsanalysen ermöglicht. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Röhrchen bei -80°C gelagert. Weiterhin erfolgte die Entnahme eines Serumröhrchens, mit dem die Messung der miRNA und der Zytokine erfolgte. Diese wurden 30 Minuten abgesetzt, bei 4°C zentrifugiert und in RNase-freie Reaktionsgefäße umpipettiert, bevor sie bis zur weiteren Bearbeitung bei -80°C gelagert wurden.

3.8. RNA – Isolation aus dem Vollblut

Die Ribonukleinsäure (RNA) ist ein Polynukleotid und besteht aus den Basen Adenin, Uracil, Guanin und Cytosin. Die RNA stellt eine Kopie der genetischen Informationen (Transkript) dar und ist ein entscheidender Bestandteil der Proteinbiosynthese (Translation). Damit ist es durch Isolierung der RNA aus bestimmten Zielzellen möglich, auf die momentane Synthesetätigkeit der Zellen zu schließen. Die RNA-Isolation stellt somit ein elegantes Verfahren zur Analyse der Genexpression zu einem bestimmten Zeitpunkt dar.

Die Isolation der RNA erfolgte in der vorliegenden Arbeit gemäß dem Paxgene Blood RNA Kit® in mehreren Arbeitsschritten. Dabei wurden die folgenden Materialien verwendet: PreAnalytiX Kit Qiagen, Rotor-Adapter, 1,5 ml Tubes Sarstedt, 96% Alkohol, DNase-Mischung aus Kit (PreAnalytiX 2008).

Zunächst erfolgte die Reinigung der RNA. Dazu wurde das zuvor bei – 80° Celsius gefrorene PAXgene-Röhrchen am Vorabend im Kühlschrank aufgetaut und nachfolgend für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden

die Röhrchen 20 Minuten zentrifugiert. Durch Zugabe von 1 ml RNase freien Wasser, maschinelles Aufschütteln und auf- und abpipettieren wurde der zelluläre Bodensatz (Pellet) aufgelöst. Nach Abzentrifugation wurde der entstandene Überstand in einem Schwung abgekippt und auf das gewaschene Pellet 350 µl Resuspensionspuffer (BR1) zugegeben und so lange gemischt, bis sich das Pellet vollständig auflöste. Nach Resuspendierung erfolgte die Übertragung in 2 ml Reaktionsgefäße (Processing Tubes, PT) ohne Deckel. Dann wurde die vollständig automatisierte RNA – Reinigung gestartet (PreAnalytiX 2008).

Um eine Isolation intakter RNA sicherzustellen, mussten die RNasen durch Zugabe eines guanidinisothiocyanathaltigen Bindungspuffers inaktiviert werden. Anschließend wurde mittels Proteinase K Zugabe die Nukleinsäurefreisetzung stimuliert und das entstandene Pellet homogenisiert. Der Überstand wurde mit Ethanol gemischt, um die Bindungsverhältnisse für die anschließende Separation der RNA zu optimieren. Nach kurzer Zentrifugation wurde die RNA mittels Silicalgel gebunden und mit Waschlösungen gereinigt. Abschließend wurde die gewonnene RNA mit einem Puffer eluiert, auf 95° Celsius erhitzt und somit denaturiert. Die eluierte RNA wurde am Nanodrop vermessen, auf Trockeneis zwischengelagert und bis zur weiteren Analyse bei –80 °C in Eppendorf-Röhrchen aufbewahrt.

Um die Reinheit und Konzentration der gewonnenen RNA zu überprüfen, erfolgte eine spektrometrische Vermessung am Nanodrop. Die Messungen des Absorptionsspektrum erfolgten bei jeweils 260nm und 280nm. Der A260/A280-Quotient erlaubt einen Rückschluss auf den Reinheitsgrad der RNA und sollte bei reiner RNA einen Wert von 1,9-2,1 besitzen (Wilfinger et al. 1997).

3.9. Genexpressionsanalyse mittels Oligonukleotid-Mikroarray

Mithilfe der DNA-Chip-Technologie ist es möglich, die Expression mehrerer tausend Gensequenzen gleichzeitig zu analysieren (Brown und Botstein 1999). Die verwendete Mikroarray-Technologie stellt eine Weiterentwicklung des Southern-Blot Methode dar und ist ein Verfahren hoher Spezifität. Dabei sind auf einer Glasplatte Gene des zu untersuchenden Organismus angeordnet, welche mit den erzeugten cDNA-Sequenzen hybridisieren. Ist die Expression eines Genes hoch, ist gleichzeitig der

Anteil markierter RNA hoch und das zugehörige Hybridisierungssignal auf dem DNA-Chip stärker ausgeprägt (Freeman et al. 2000).

Es gibt verschiedene technologische Varianten von Mikroarrays - In-situ-Arrays, Spotted Arrays und Bead Arrays. In dieser Studie kamen Bead Arrays der Firma Illumina zum Einsatz. Den Bead Arrays dienen Oligonukleotide als Sondenmaterial. Beads sind künstlich erzeugte Kügelchen, die zufällig auf einer Silikonoberfläche eines Glasträgers, dem sog. Chip, verteilt und in kleinen Ausbuchtungen gebunden sind. An jedem Bead heftet eine synthetische Oligonukleotid-Sonde, die aus insgesamt 79 Basen besteht und ein Transkript spezifisch binden kann (Steemers und Gunderson 2005). Somit ist es möglich, die Expression von mehreren tausend Transkripten zu messen. Die Verteilung der Beads über das Array erfolgt von Array zu Array zufällig und stellt einen Vorteil in der statistischen Auswertung dar.

Die Genexpressionsanalyse mittels der Mikroarray-Technik sowie die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe von Herrn Markus Bläß und Dr. rer. nat. Herrn Sandro Lindig., wissenschaftliche Mitarbeiter der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin Jena.

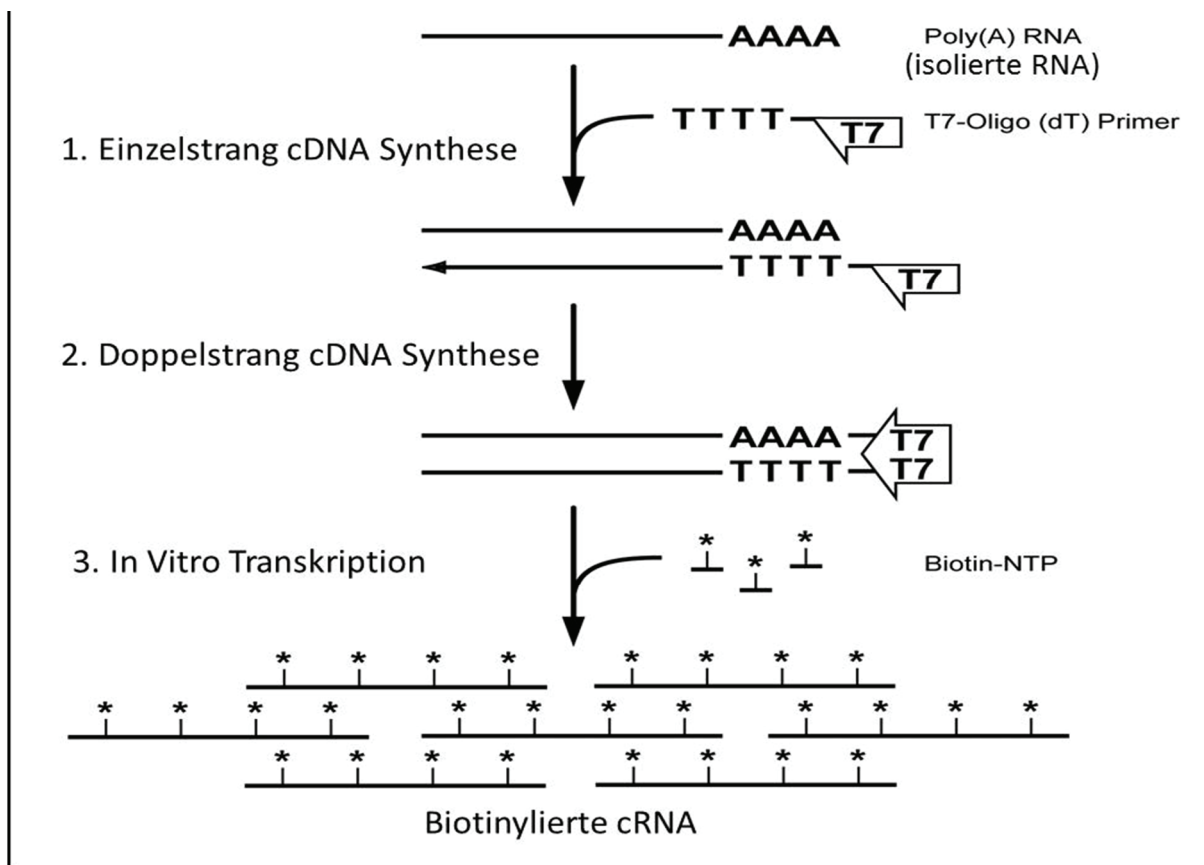
In der vorliegenden Arbeit wurde die Genexpressionsanalyse mit Hilfe des „TargetAmp™-Nano Labeling Kit for Illumina® Expression BeadChip®“ und in Übereinstimmung mit dem Protokoll des „Illumina® for the BeadArray Reader 500 X“ durchgeführt.

Im Folgenden soll der Ablauf der Analyse exemplarisch dargestellt werden:

Zunächst erfolgt die Synthese der Einzelstrang-cDNA durch eine Reverse Transkription mit T7-Oligo-dT-Primern. Als Vorlage dient die zuvor isolierte RNA. Im nächsten Schritt wird die Einzelstrang-cDNA in eine Doppelstrang-cDNA umgewandelt. Hierzu muss eine entsprechende DNA-Polymerase zugeführt werden.

In der darauffolgenden *in vitro* Transkription werden multiple Kopien von biotinylierter cRNA unter Verwendung der doppelsträngigen cDNA gebildet. Dabei wird die cRNA

Abb. 2: Überblick über den Ablauf der RNA-Markierung mit Hilfe des TargetAmp™- Nano Labeling Kit for Illumina® Expression BeadChip®



amplifiziert und gelabeled (epicentre.com 2013) (**Abbildung 2**).

Einen Überblick über die Zusätze und den Ablauf der RNA-Markierung gibt

Tabelle 1:

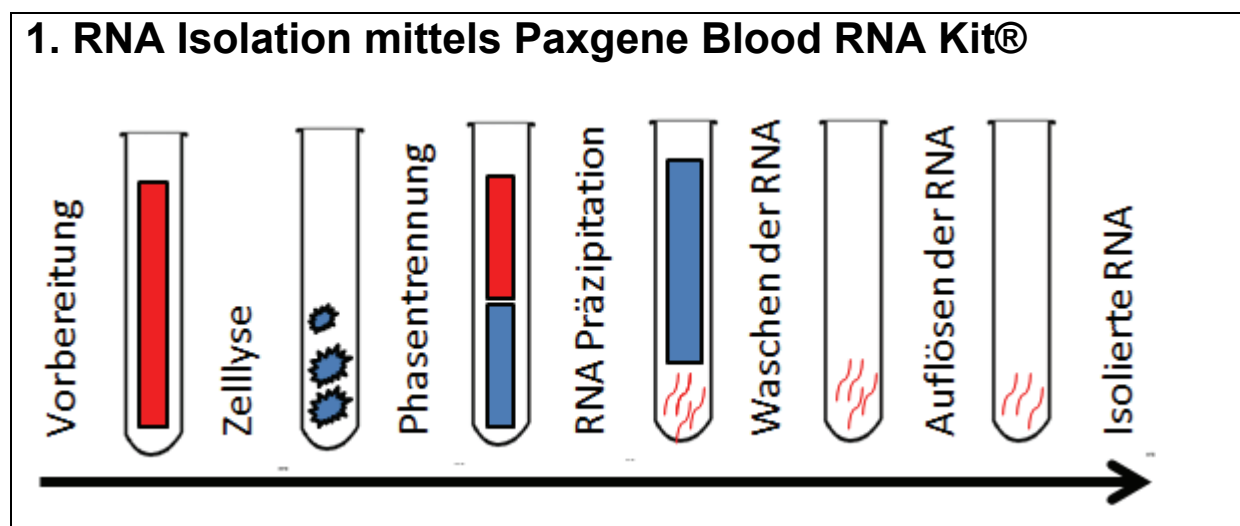
Einzelstrang cDNA Synthese	<p>1. gemischt werden: 1 µl RNase-Free Water 1 µl RNA sample (25ng – 500 ng) 1 µl T7-Oligo(dT) Primer 3 µl totales Volumen</p> <p>2. Inkubation bei 65°C für 5 min, dann auf Eis legen.</p> <p>3. Zu jeder Reaktion hinzuzufügen: 1,5 µl Einzelstrang cDNA PreMix 0,25 µl DTT 0,25 µl SuperScript III ReversTranskr.</p> <p>4. Vermischen und bei 50°C für 30 min inkubieren, auf Eis legen.</p>
Doppelstrang cDNA Synthese	<p>1. Zu jeder Reaktion hinzuzufügen, auf Eis: 4,5 µl Doppelstrang cDNA PreMix 0,5 µl Doppelstrang DNA Polymerase</p> <p>2. Mischen und bei 65°C für 10 min inkubieren</p> <p>3. Inkubieren bei 80°C für 3 min, dann abzentrifugieren und auf Eis legen</p>
In vitro Transkription der biotinylierten cRNA	<p>1. T7 RNA Polymerase und T7 Transkriptionspuffer auf Raumtemperatur aufwärmen, den Transkriptionspuffer mischen.</p> <p>2. Bei Raumtemperatur zu jeder Reaktion hinzuzufügen: 2 µl T7 Transkriptionspuffer 3 µl UTP/Biotin-UTP 10 µl NTP PreMix 3 µl DTT 2 µl T7 RNA Polymerase</p> <p>3. Mischen und inkubieren bei 42°C für 4 Stunden</p> <p>4. Hinzufügen von 2 µl RNase-freier- DNase zu jeder Reaktion</p> <p>5. Inkubation bei 37°C für 15 min</p>

Tab. 1 Zusätze und Ablauf der RNA-Markierung (epicentre.com 2013)

In zwei abschließenden Schritten wird die cRNA in mehreren Phasen gereinigt und die Ausbeute bestimmt. Die biotinierte cRNA hybridisiert dann mit der auf dem Bead Chip vorhandenen Gensequenz. Der Bead Chip wird mit dem Fluoreszenzfarbstoff Cy3-

Streptavidin markiert. Streptavidin besitzt eine hohe Affinität zu Biotin, bindet damit an die zuvor biotinylierte cRNA und bildet mit dieser einen hochstabilen Komplex (Chalet und Wolf 1964).

Im Anschluss an die Hybridisierung erfolgte das Scannen der Arrays mit Hilfe des BeadArray Reader 500 X. Dabei wird der Fluoreszenzfarbstoff Cy3-Streptavidin durch einen Laser angeregt und die entstehenden Emissionen gemessen (Lockhart et al. 1996). Ein Ablaufschema über die durchgeführte Geneexpressionsanalyse einschließlich der RNA-Isolation und Gewinnung der cRNA ist in der **Abbildung 3** dargestellt.



2. Herstellung der cDNA (complementary DNA)

cDNA ist ein einzelsträngiges DNA-Molekül, dessen Basensequenz sich zur Sequenz eines RNA-Moleküls komplementär verhält. Zur Synthese nutzt man den poly-A-Schwanz der zuvor isolierten mRNA aus, um diese mit einem Oligo-dT-Primers durch die virale Reverse Transkriptase in cDNA umzuschreiben. Eine cDNA enthält nur den transkribierten Bereich eines Gens. Auf Grundlage der cDNA werden nun multiple Kopien von cRNA gebildet.

3. Markierung der Probe

Die transkribierten Bereiche gebildeten und inzwischen biotinierten cRNA wurden nun mit Hilfe des Fluoreszenzfarbstoffes Cy3-Streptavidin. Streptavidin besitzt eine hohe Affinität zu Biotin, bindet damit an die zuvor biotinierte cRNA und bildet mit dieser einen hochstabilen Komplex.

4. Hybridisierung auf die Microarrayplatte

Es folgt die Anlagerung der synthetisierten und markierten cRNA auf eine entsprechende Microarrayplatte.

5. Detektion

Abschließend erfolgte ein Scan der Arrays mit Hilfe des BeadArray Reader 500 X. Der Fluoreszenzfarbstoff Cy3-Streptavidin wird durch einen Laser angeregt und die entstehenden Emissionen gemessen. Ist die Expression eines Gens hoch, ist auch der Anteil markierter cRNA hoch und das zugehörige Hybridisierungssignal auf dem DNA-Chip entsprechend stärker ausgeprägt.

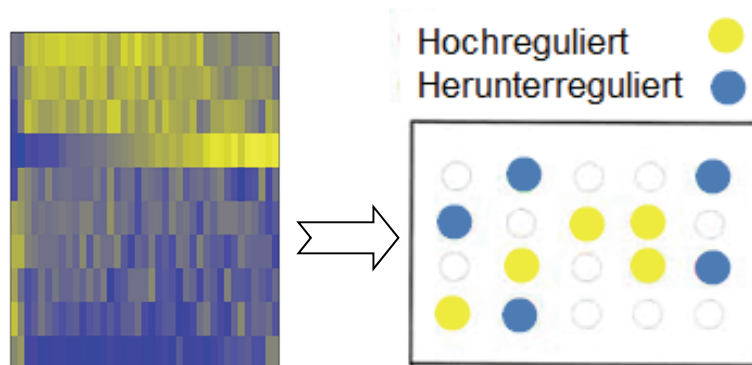


Abb. 3 Vereinfachtes Ablaufschema der durchgeführten Genexpressionsanalyse mittels Microarray

3.10. Statistische Analyse

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine prospektive, multizentrische Pilotstudie. Zunächst erfolgte die Vorverarbeitung der Array Daten. Die Illumina humanRef8 V2-Chips der 34 Proben (12 Probe 1, 10 Probe 2 und 12 Probe 3) wurden mit Genome Studio (v.1.9 und Annotation HumanHT-12_V4_0_R2_15002873_B) ausgelesen. Hierdurch ergaben sich für jede einzelne Probe insgesamt 47.323 beat types (Transkripte). Die Validierung erfolgte für 10 replizierte Proben durch einen zweiten Durchlauf. Die Microarray-Daten-Analyse wurde unter Verwendung von R-Software (<http://www.r-project.org/>) Version 3.0.2 und Bioconductor Pakete durchgeführt (Gentleman et al. 2004). Die Rohdaten wurden dann einer robusten Spline-Normalisierung und Hintergrundkorrektur mit dem R-Paket lumi unterzogen (Du et al. 2008). Die Bead-Typen mit $p < 0,01$ in mindestens vier Proben wurden für die weitere Analyse entnommen. Weiterhin wurden Qualitätskontrollen mit Beurteilung der jeweiligen p-Werte, Wert-Varianz-Beziehungen sowie ein hierarchisches Clustering und eine multidimensionale Skalierung durchgeführt. Die Rohdaten sowie die log2 normierten Daten wurden bei „Genexpression Omnibus“ (GEO) (Barrett et al. 2013) hochgeladen und stehen unter GSE58270 zur Verfügung (Link: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?token=ytqdcgaotbslrgn&acc=GSE58270>). Im Anschluss erfolgte die Analyse der verschiedenen Behandlungseffekte. Die Behandlungseffekte und phasen- bzw. zeitabhängigen Effekte wurden mit Hilfe einer Zweifaktoren ANOVA in einem gemischten Design (eine zwischen- und eine innerhalb der Patienten) bei maximierter Log-Wahrscheinlichkeit mit zufälligem Schnittmodell beurteilt. Die einzelnen Behandlungsunterschiede innerhalb und zwischen den verschiedenen Zeitpunkten wurden durch Vergleich der Zeitverlauf-profile beurteilt. Nun erfolgte die Betrachtung der differentiell exprimierten Gene. Dabei wurden die DEG nach folgenden Kriterien gefiltert: 1,4 fache Veränderung und $p < 0,05$. Dies erfolgte in Übereinstimmung mit den Mikroarray-Qualitätskontrollkriterien, angepasst an kleine Fallzahlen von IMMA (Smyth 2004) nach den MAC Kriterien (Shi et al. 2010). Da Veränderungen der RNA-Spiegel durch Stressantwort wie z.B. im Rahmen eines CPB induziert werden können und dadurch die eigentlichen Effekte der Präkonditionierung maskiert werden könnten (Tomic et al. 2005), wurde das Signifikanzniveau auf $p < 0,05$ festgelegt. Darüber hinaus wurden individuelle Unterschiede verglichen und an die ersten überwachten Antworten angepasst. Die

Gen-Set Anreicherungsanalyse (GSEA) wurde unter Verwendung von hypergeometrischen Tests durchgeführt (Feng et al. 2012) und mit allen Teilbäumen entsprechenden Gene Ontology Kategorien (GO) zugeordnet (Ashburner et al. 2000). Nach Abschluss der Datenerhebung wurden die relevanten Messwerte im Programm Microsoft Excel® in tabellarischer Form gesammelt und im Anschluss sowohl primär mittels Excel® als auch mit Hilfe der Statistiksoftware SPSS® 22 für Windows 7 statisch aufgearbeitet. Aufgrund des Studiendesigns und der geringen Anzahl an Probanden wurden bei der Analyse sowohl parametrische, als auch nichtparametrische Tests verwendet. Die Expressionsveränderungen der durchschnittlichen Signale wurde jeweils als Median angegeben. Dieser ist bezüglich Ausreißern gegenüber dem Mittelwert robuster. Zur Ermittlung von Unterschieden der Messergebnisse zwischen und innerhalb der verschiedenen Gruppen und Blutentnahmen kam ein zweiseitiger T-Test für zwei unabhängige Stichproben ungleicher Varianz zum Einsatz. Das Signifikanzniveau (α -Level) wurde auf $<0,05$ festgelegt.

Um mögliche Korrelationen zwischen den Expressionsveränderungen der durchschnittlichen Signale (CKLF.1, HLA-B, HLA-F.1, HLA-H.1, IL8, IL8.1, IL8.RB, IL8RBP, PTGS2.1 und HBZ.) und dem Alter, der Körpergröße, dem Körpergewicht, der HLM-Bypasszeit, der Aortenklammzeit und der tiefsten Temperatur zu ermitteln, wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson ist ein dimensionsloses Maß für die Stärke eines linearen Zusammenhangs. Er setzt quantitative und normalverteilte Größen unabhängiger Beobachtungspaare voraus. Der mit „r“ symbolisierte Korrelationskoeffizient liegt zwischen -1 und $+1$. Dabei zeigt ein Koeffizient nahe an 1 einen starken, ein Koeffizient nahe an 0 einen schwachen Zusammenhang an. Ein negativer Korrelationskoeffizient zeigt hingegen einen gegenläufigen Zusammenhang an. Um die Größe des Betrages des Korrelationskoeffizienten zu beschreiben, ist folgende Einteilung üblich: $r = 0 - 0,2$ (sehr geringe Korrelation); $r = 0,2 - 0,5$ (geringe Korrelation); $r = 0,5 - 0,7$ (mittlere Korrelation); $r = 0,7 - 0,9$ (hohe Korrelation) und $r > 0,9$ (sehr hohe Korrelation). Der Korrelationskoeffizient kann hierbei jedoch keine Ursache–Wirkungs–Beziehung liefern (Bühl 2008).

4. Ergebnisse

4.1. Demographische Daten der Kontroll- und Interventionsgruppe

Von den zwölf Patienten wurden sieben Patienten der Kontrollgruppe und fünf Patienten der Interventionsgruppe zugeordnet. Eine Übersicht über die Patienten der Kontroll- und Interventionsgruppe erhalten Sie in **Tabelle 2 und 3**.

Biometrische Daten und Messparameter der Kontrollgruppe							
	Weiblich	Männlich					
Patient	1	2	3	4	5	6	7
Alter (Jahre)	71	60	53	55	52	40	72
Größe (cm)	172	180	183	178	180	170	174
Gewicht (kg)	167	96,8	70	82	103	70	100
HLM Bypasszeit	12:16- 13:50h	9:31- 11:47h	09:02- 11:20h	13:34- 16:01h	8:57- 11:20h	8:25- 10:55h	12:35h- 16:11h
Bypasszeit (min)	94	136	102	147	143	150	156
Aortenklemmzeit (min)	76	123	112	129	119	127	150
Tiefste Temperatur (°C)	33,3	36,1	34,3	35,1	34	35,6	35,5

Tab. 2 Biometrische Daten und Messparameter der Kontrollgruppe

*cm = Zentimeter; kg = Kilogramm; HLM = Herz-Lungen-Maschine ;
min = Minuten; °C = Grad Celsius*

Biometrische Daten und Messparameter der Interventionsgruppe					
	Weiblich		Männlich		
Patient	1	2	3	4	5
Alter (Jahre)	70	62	71	59	44
Größe (cm)	158	158	198	182	175
Gewicht (kg)	51	98	97	135	91
HLM Bypasszeit	09:03- 10:22h	9:07- 11:19h	9:21h- 11:19h	11:47- 13:37h	11:38- 13:35h
Bypasszeit (min)	79	132	118	110	117
Aortenklammzeit (min)	49	117	66	84	94
Tiefste Temperatur (°C)	32	36,1	35,6	32	36,1

Tab. 3 Biometrische Daten und Messparameter der Interventionsgruppe

*cm = Zentimeter; kg = Kilogramm; HLM = Herz-Lungen-Maschine ;
min = Minuten; °C = Grad Celsius*

Die Patienten unterzogen sich unterschiedlichen Operationsverfahren, der überwiegende Teil der Patienten erhielt Kombinationseingriffe. Einen Überblick gibt Ihnen die folgende **Abbildung 4**.

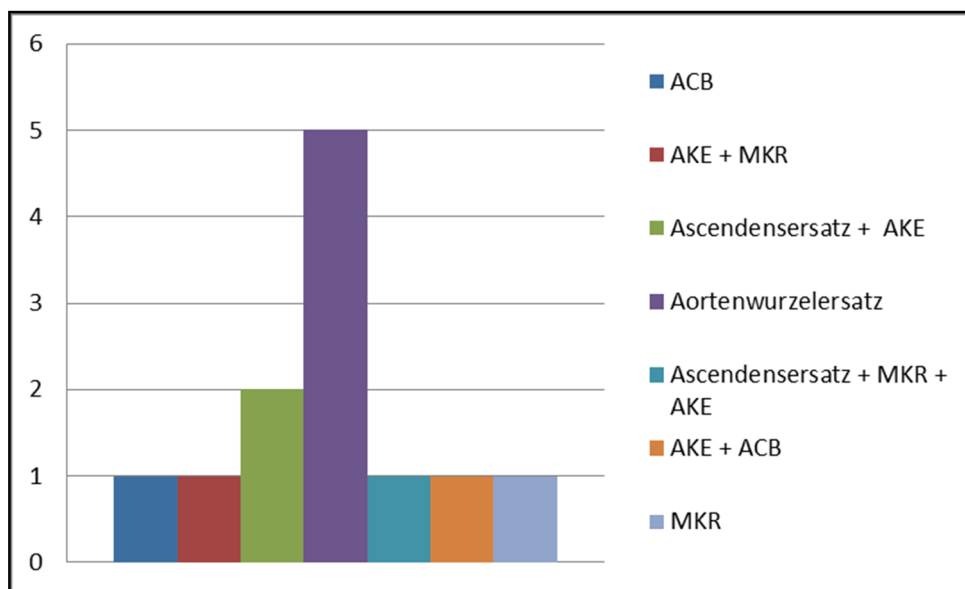


Abb. 4 Anzahl der unterschiedlichen Operationsverfahren

*ACB = Aortokoronarer Bypass AKE = Aortenklappenersatz
MKR = Mitralklappenrekonstruktion*

4.2. Globale und zeitspezifische Effekte der ischämischen Präkonditionierung

Zum besseren Verständnis der Auswertungsprozesse werden im Folgenden die einzelnen Vergleiche und die sich hieraus ergebenden Überschneidungen im Detail dargestellt. Die drei Blutproben, die zu den definierten Zeitpunkten (P1-P3) abgenommen wurden, wurden für die Auswertung der Fern-Präkonditionierung (RIPC) zunächst separat betrachtet. Zusätzlich wurden die Blutproben 1 und 2 untereinander individuell gepaart als P1/2 und P1/3 betrachtet. Eine globale Übersicht über das experimentelle Design gibt die **Abbildung 5**.

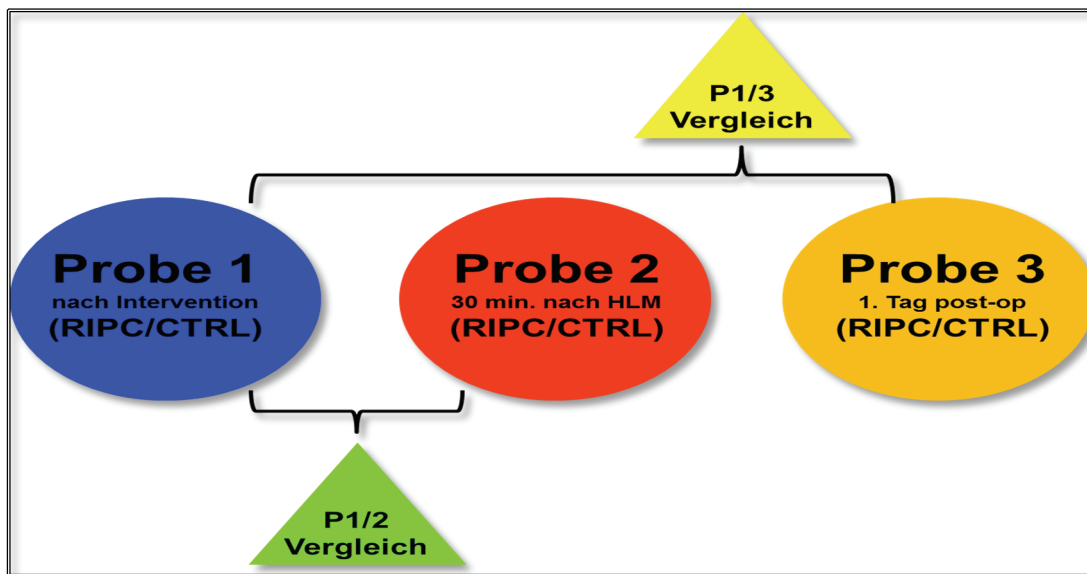


Abb. 5 Experimentelles Design der Gegensätze und Übersicht der betrachteten Vergleiche. Proben vor und nach kardiopulmonalen Bypass
RIPC = Ischämischen Präkonditionierung, **CTRL** = Kontrolle

Bei der Betrachtung der Anzahl der differentiell exprimierten Gene für jede einzelne Probe vor Anschluss der HLM (P1) und 30 min nach Abgang der HLM (P2) und am ersten postoperativen Tag (P3) zeigten sich die in **Abbildung 6** aufgezeigten Ergebnisse. Des Weiteren wurde jeweils die Anzahl der Überschneidungen, d.h. wie viele gemeinsame differentiell exprimierte Gene waren zum jeweiligen Zeitpunkt vorhanden, betrachtet. Aus der geringen Anzahl der zu jedem Betrachtungszeitpunkt vorhandenen differentiell exprimierten Gene lässt sich schon hier eine Dynamik der Genexpression aufgrund der Intervention ableiten. Dabei zeigten sich zwischen der Interventions- und Kontrollgruppe nur wenige Überschneidungen, d.h. beim Vergleich der Probe 1 (P1) ergaben sich lediglich 144, bei der zweiten Probe (P2) 174 und bei der dritten Probe (P3) 171 differentiell exprimierte Gene.

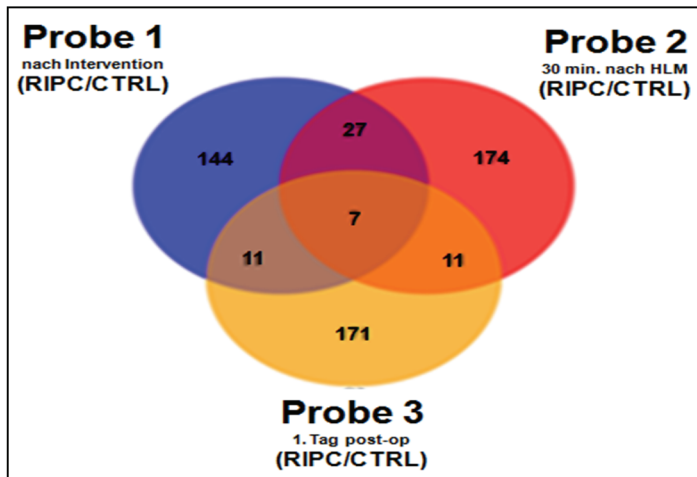


Abb. 6 Zeitspezifische Unterschiede der Expression der differentiell exprimierten Gene. Die Veränderungen nach der CPB für den Vergleich zwischen Probe 1, Probe 2 und Probe 3 und die geringe Überlappung der einzelnen aufgelösten Verschiebungen.

Um weitere differentiell exprimierten Gene und Überschneidungen zu identifizieren, wurden in einem weiteren Schritt die Blutprobe 1/2 und Blutprobe 1/3 individuell gepaart. Durch diese Anpassung konnte die Anzahl der identifizierten differentiell exprimierten Gene nach Anlage der Herzlungenmaschine nochmals erhöht werden. Die Details wurden in **Abbildung 7** dargestellt. Obwohl im Vorfeld keine Unterschiede im Hinblick auf die Anzahl der identifizierten differentiell exprimierten Gene zu erwarten waren, konnten durch die individuelle Paarung und Betrachtung der Überschneidungen gleich mehrere neue potentielle Kandidatengene identifiziert werden, siehe **Abbildung 8**.

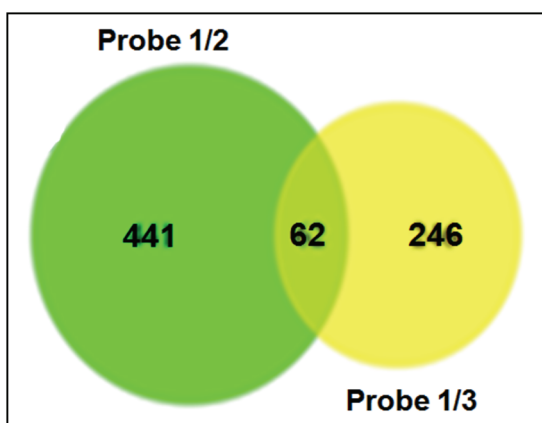


Abb. 7 Individuelle Paarung der Proben 1/2 und 1/3

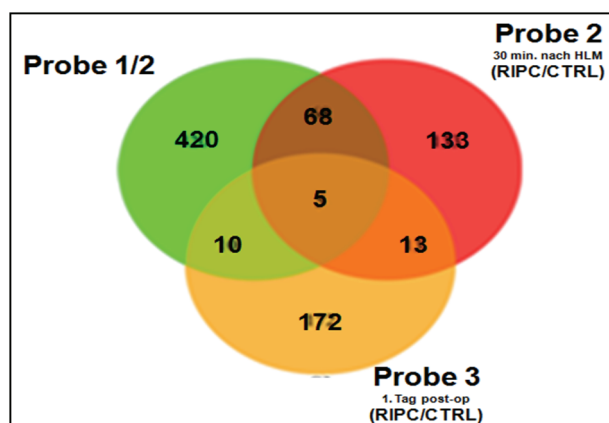


Abb. 8 Experimentelle Betrachtung der Überschneidungen zwischen den Proben 1/2, Probe 1 und Probe 2

Abbildung 9 zeigt das Dendrogramm einer Clusterbildung für die einzelnen Blutproben der zwölf randomisierten Patienten. Bei der Betrachtung der einzelnen Blutproben (T1-T3 = P1-P3) zeigte sich eine ausgeprägte Ähnlichkeit der Cluster in Bezug auf die relevanten Variablen. Bei der Bildung der homogenen Cluster zeigte sich in der Gesamtzusammenschau weiterhin auch eine enge Beziehung der Cluster (T1-T3 = P1-P3) untereinander, unabhängig von der ischämischen Präkonditionierung. Die Gesamtdifferenz der Interventions- vs. Kontrollgruppe über alle Stufen zeigt jedoch ein deutlich von einer gleichförmigen Verteilung abweichendes Ergebnis. Dies wurde zusätzlich durch eine zweifaktorielle ANOVA bestätigt. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die HLM den wohl größten Einfluss auf die Expression der verschiedenen Gene hat. Die geringeren Effekte der ischämischen Präkonditionierung werden dabei wahrscheinlich durch die Auswirkungen der HLM maskiert und sind daher durch unsere Analysen nicht klar abgrenzbar.

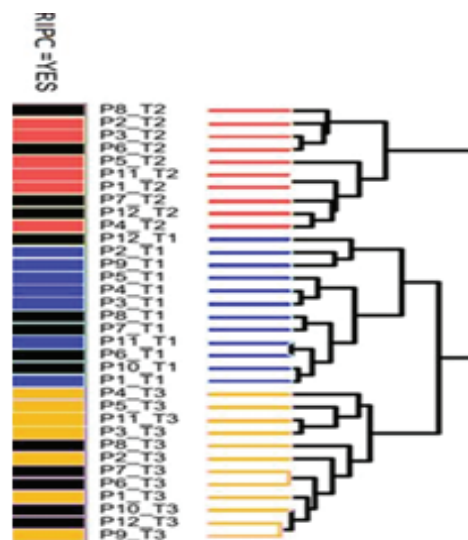


Abb. 9 Dendrogramm: Aufteilung der heterogenen Gesamtheit in homogene Cluster, schwarze Balken stellen die Patienten der Interventionsgruppe dar; farbliche Balken stellen Patienten der Kontrollgruppe dar, T1 (blau) erste Blutprobe, T2 (rot) zweite Blutprobe, T3 (gelb) dritte Blutprobe

Um einen tieferen Einblick in die biologische Bedeutung der Veränderungen in der Genexpression zu gewinnen, wurde versucht, angereicherte Gene Ontology (GO) Kategorien, die wesentlich durch die ischämische Fernpräkonditionierung betroffen sein könnten, zu identifizieren. Die bedeutendsten Kategorien, die hoch- und herunter reguliert wurden, sind in **Tabelle 4** dargestellt. Dabei wurden doppelte Transkripte und Gene mit unbekannter Funktion nicht berücksichtigt.

GO ID	GO term	ratio (observed/list)	p-value	FDR-adj.p- value	ratio (observed/list)	p-value	FDR adj.-p value
Probe 2					Vergleich Probe 1/ Probe 2		
6414	translational elongation	0.058	1.52E-06	0.0009	0.13026	1.04E-36	4.03E-33
22626	cytosolic ribosome	0.051	5.81E-06	0.0016	0.11877	1.26E-34	1.63E-31
6613	cotranslational protein targeting to membrane	0.0583	1.52E-06	0.0009	0.11877	4.15E-32	2.68E-29
Probe 3					Vergleich Probe 1/ Probe 3		
6952	defense response	0.2953	1.38E-15	3.91E-12	0.28638	2.4E-20	9.44E-17
45087	innate immune response	0.2147	5.64E-14	8.02E-11	0.33802	1.32E-18	2.6E-15
60337	type I interferon-mediated signaling pathway	0.0738	2.52E-11	7.96E-09	0.10798	1.28E-16	6.28E-14

Tab. 4 Angereicherte Kategorien für differentiell exprimierte Gene, beurteilt für die Gegensätze nach kardiopulmonalem Bypass bzw. HLM (P2 und P3) sowie der individuell bereinigten Kontraste P1/2 und P1/3.

Es zeigte sich, dass durch die Präkonditionierung verschiedene ribosomale- und immunologische Funktionen auf dynamische Art und Weise beeinflusst wurden. Weiterhin zeigte sich für die Präkonditionierungsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe am ersten postoperativen Tag eine signifikant geringere Stressantwort. Viele der herunter regulierten Transkripte zeigten eine Assoziation mit der Immun-Stressantwort (Zytokine, Interleukine, Interferone), siehe **Abbildung 10**.

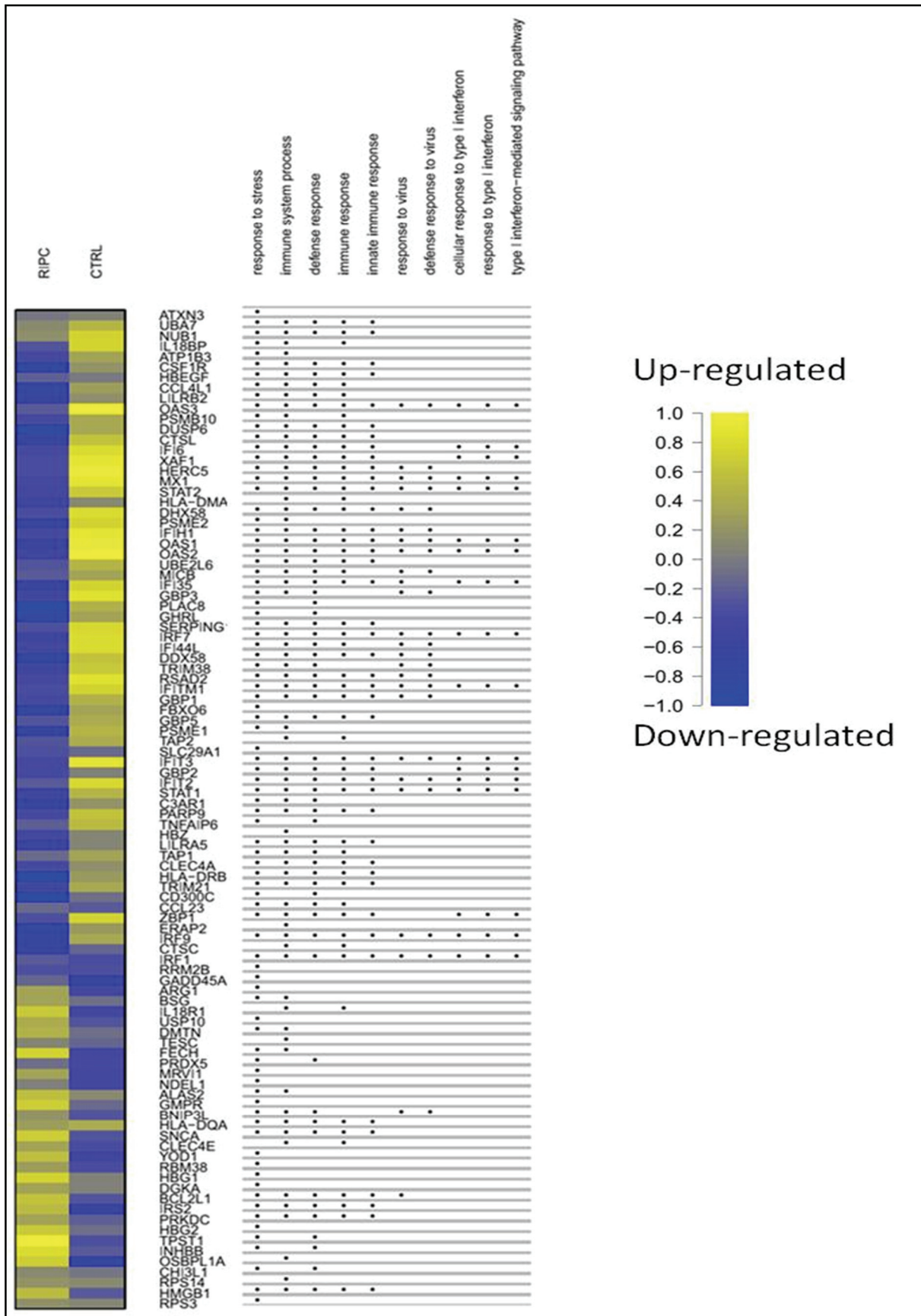


Abb. 10 Übersicht über die hoch- und herunter regulierten Transkripte in der Interventions- (RIPC) und Kontrollgruppe (CTRL) bezogen auf die verschiedenen Kategorien am ersten postoperativen Tag.

Nach der Bestimmung der individuellen und gemittelten Vergleiche wurden die vielversprechendsten Kandidaten mit Hilfe der Mittelwert-Varianz-Methode validiert. Dabei wurden verschiedene Kandidatengene mit Hilfe sogenannter Profile-plots dargestellt (**Abbildung 11**). Wie schon in **Tabelle 4** dargestellt, unterlagen die Expressionsniveaus hoch- und herunter regulierter Transkripte sehr unterschiedlichen Kategorien. Die ausgeprägteste und nachhaltigste Veränderung in Bezug auf allgemeine und individuelle Überlegungen zeigte sich bei der Hämoglobinuntereinheit zeta (HBZ).

Unmittelbar nach Abgang der HLM zeigten sich bei den Patienten der Interventionsgruppe niedrigere (nicht-korrelierende) proinflammatorische (IL8) und antiinflammatorische (IL10) Transkripte. Weiterhin zeigten sich am ersten postoperativen Tag für die Interventionsgruppe verringerte Niveaus für Transkriptionsproteine, insbesondere STAT1 (Signal - Transduktoren und Aktivatoren der Transkription).

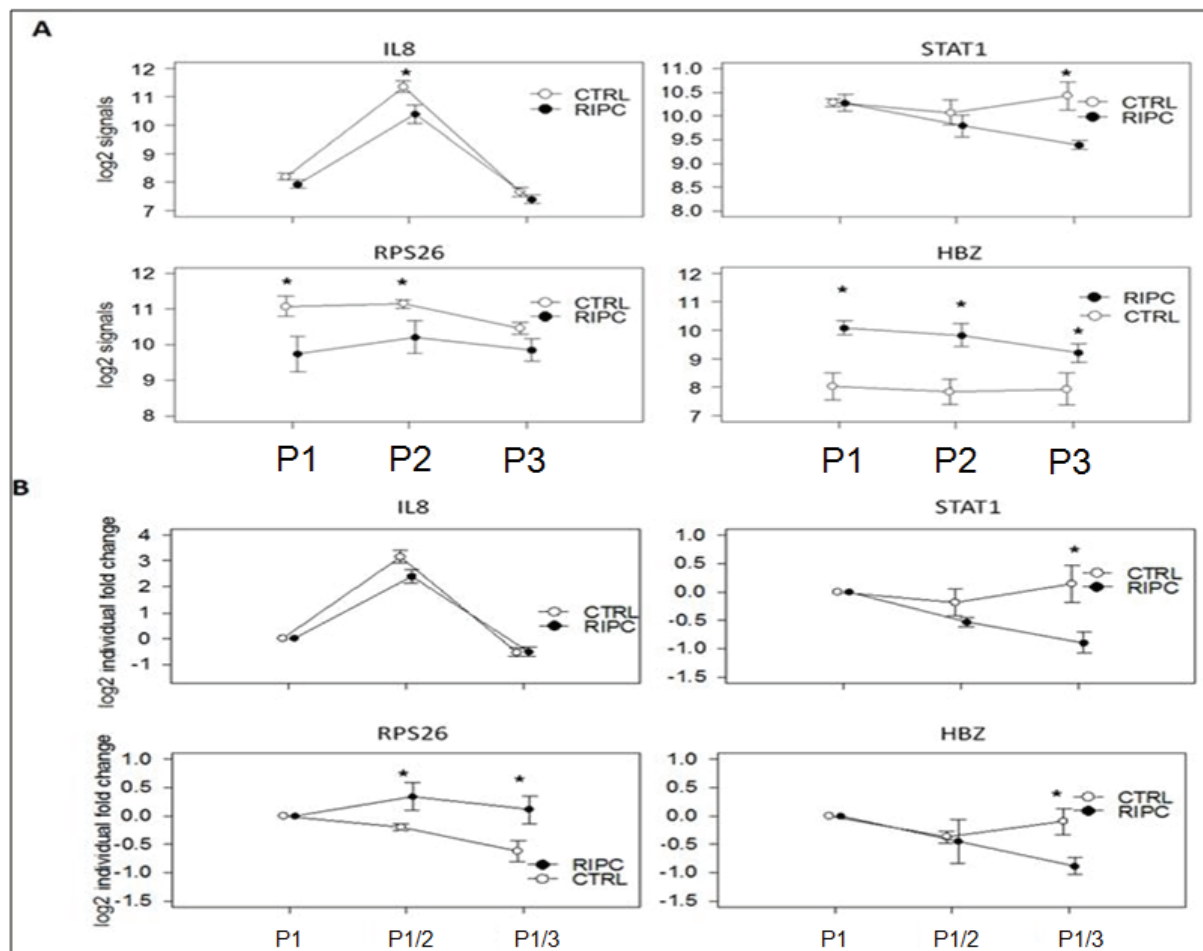


Abb. 11 Profile-plots, Mittlere-SEM (Standardfehler des Mittelwerts): Interleukin 8 (IL8) nach CPB (P2) und postoperativ (P3), Signalgeber und Aktivator der Transkription 1 (STAT1), Hämoglobin zeta (HBZ) und das ribosomale Protein S26 (RPS26) für P1-P3 (A) und individuell angepasst P1/2-P1/3 (B). * zeigt Ihnen, $p < .05$

Bei Analyse der deskriptiven Statistik konnten noch weitere potenziell relevante Transkripte identifiziert werden. Auf diese soll in den folgenden Punkten näher eingegangen werden.

4.3. Potentiell relevante Transkripte beider Probandengruppe

Die p-Werte wurden sowohl zwischen der ersten und zweiten, der ersten und dritten und der zweiten und dritten Probe bestimmt. Das Signifikanzniveau wurde dabei auf $p < 0,05$ festgelegt. Signifikante Unterschiede der Mediane beim CKLF.1 (Chemokine-like factor 1) ergaben sich sowohl zwischen der ersten und zweiten ($p < 0,05$) als auch zwischen der ersten und dritten ($p < 0,05$) Probe. Es zeigt sich also ein signifikanter Anstieg nach Durchführung der HLM, der auch noch bis zum ersten postoperativen Tag anhielt. Die Messung des IL 8 erfolgte in zwei technischen Replikaten (IL 8 und IL 8.1). Bei Betrachtung aller Patienten zeigen sich signifikante Unterschiede in allen drei Proben, sowohl in IL8-, als auch in IL8.1. Interessanter Weise zeigte sich bei der zweiten BE, also nach Durchführung der HLM, jeweils ein deutlicher Anstieg der mRNA dieser beiden proinflammatorischen Mediatoren, der allerdings am ersten postoperativem Tag schon fast wieder auf das Ausgangsniveau abgefallen war. Beim IL8RBP, einem Pseudogen von IL8RB, können signifikante Unterschiede zwischen der ersten und zweiten ($p < 0,05$) und zwischen der zweiten und dritten ($p < 0,05$) Probe beobachtet werden. IL 8RBP fällt zunächst von 7,16 auf 6,99 ab, um dann am ersten postoperativem Tag wieder auf 7,31 anzusteigen. Dieses Ergebnis lässt sich gut mit dem damit korrelierendem IL 8 Anstieg erklären. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass sich die Mediane der PTGS2.1 (Prostaglandin-endoperoxide synthase 2) zwischen der ersten und zweiten ($p < 0,05$), als auch zwischen der zweiten und dritten ($p < 0,05$) Probe signifikant unterschieden. Auch hier kommt es wie beim IL 8 zunächst zu einem Anstieg und anschließend zum Abfall auf den Ausgangswert. Signifikante Unterschiede ergaben sich aber nicht zwischen der ersten und dritten ($p = 0,705$) Blutentnahme. Hier ist also auch von einem nur kurz andauernden Früheffekt auszugehen. Das Protein Hämoglobin zeta (HBZ), eine embryonale Untereinheit des Hämoglobins, wies bei der gemeinsamen Betrachtung der Interventions- und Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede zwischen den entnommenen Proben auf (siehe **Tabelle 5**). Es ist davon auszugehen, dass die beobachteten Prozesse

durch entsprechende Mediatoraktivierungen durch die HLM hervorgerufen wurden. Die detaillierte Analyse der einzelnen Gruppen soll in den folgenden Abschnitten erfolgen.

Median und p-Werte aller Patienten (Kontroll- und Interventionsgruppe)											
Parameter	Probe 1			Probe 2			Probe 3			P 1/2	P 1/3
	n	Median I	SD	n	Median II	SD	n	Median III	SD	p-Wert I/II	p-Wert I/III
CKLF.1	12	10,97	0,35	10	11,86	0,44	12	11,88	0,37	<0,05	<0,05
HLA-B	12	14,32	0,49	10	14,23	0,35	12	14,38	0,36	0,949	0,785
HLA-F.1	12	12,73	0,79	10	12,33	0,70	12	12,73	0,64	0,906	0,820
HLA-H.1	12	13,70	0,69	10	13,38	0,61	12	13,74	0,52	0,979	0,965
IL8	12	7,86	0,29	10	10,78	0,73	12	7,49	0,30	<0,05	<0,05
IL8.1	12	8,78	0,45	10	12,39	0,69	12	7,87	0,58	<0,05	<0,05
IL8RB	12	10,53	0,73	10	10,34	0,33	12	10,64	0,70	0,641	<0,05
IL8RBP	12	7,16	0,29	10	6,99	0,16	12	7,31	0,21	<0,05	0,463
PTGS2.1	12	8,11	0,22	10	9,25	0,51	12	8,09	0,10	<0,05	0,705
HBZ	12	8,79	1,26	10	8,45	1,23	12	8,79	4,61	0,665	0,950

Tab. 5 Mediane und p-Werte der Kontroll- und Interventionsgruppe

n = Patientenanzahl; *SD* = Standardabweichung ; *Median I* = Probe 1 (*P1*); *Median II* = Probe 2 (*P2*); *Median III* = Probe 3 (*P3*)

4.3.1. Relevante Transkripte der in Kontrollgruppe

Bei Betrachtung der Mediane und p-Werte der Kontrollgruppe fiel Folgendes auf: Die Mediane von CKLF.1 unterschieden sich jeweils zwischen der ersten und zweiten und der ersten und dritten ($p < 0,05$) Probe. Zwischen der zweiten und dritten Probe konnte dies nicht nachgewiesen werden. Dies entspricht somit der Gesamtbetrachtung aus **Tabelle 6**. Die IL8-Mediane unterschieden sich signifikant ($p < 0,05$) in allen drei Proben. Auch im IL8 Replikat (IL8.1) fielen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) nur zwischen der ersten und zweiten Probe und der zweiten und dritten Probe auf. Auch diese Ergebnisse entsprechen weitestgehend den Werten aus der Gesamtbeobachtung und lässt sich wohl durch die Mediatorfreisetzung und Aktivierung während der HLM erklären. Ebenfalls signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) ergaben sich beim IL8RBP zwischen der zweiten und dritten sowie beim PTGS2.1 zwischen der ersten und zweiten und zweiten und dritten Proben. Auch bei der Betrachtung der einzelnen Proben in der Kontrollgruppe konnten im Median keine signifikanten Unterschiede beim HBZ festgestellt werden. Auffällig sind jedoch die im

Vergleich zur Gesamtbeurteilung durchweg niedrigeren Werte zu allen Zeitpunkten in der Kontrollgruppe. Siehe dazu **Tabelle 6**.

Median und p-Werte der Kontrollgruppe											
Parameter	Probe 1			Probe 2			Probe 3			P 1/2	P 1/3
	n	Median I	SD	n	Median II	SD	n	Median III	SD	p-Wert I/II	p-Wert I/III
CKLF.1	7	10,81	0,35	6	11,72	0,32	7	11,69	0,44	<0,05	<0,05
HLA-B	7	14,40	0,49	6	14,44	0,16	7	14,46	0,41	0,481	0,553
HLA-F.1	7	13,05	0,79	6	13,09	0,53	7	12,98	0,71	0,772	0,625
HLA-H.1	7	13,84	0,69	6	13,92	0,43	7	13,95	0,54	0,561	0,436
IL8	7	7,86	0,29	6	10,88	0,51	7	7,53	0,34	<0,05	<0,05
IL8.1	7	8,61	0,45	6	12,53	0,33	7	7,96	0,71	<0,05	0,053
IL8RB	7	10,59	0,73	6	10,11	0,38	7	10,49	0,63	0,741	0,666
IL8RBP	7	7,12	0,29	6	6,98	0,14	7	7,34	0,21	0,058	0,257
PTGS2.1	7	8,11	0,22	6	9,37	0,45	7	8,06	0,13	<0,05	0,842
HBZ	7	7,61	1,06	6	7,66	0,92	7	7,44	1,28	0,759	0,902

Tab. 6 Mediane und p-Werte der Kontrollgruppe

n = Patientenzahl; *SD* = Standardabweichung ; Median I = Probe 1 (P1); Median II = Probe 2 (P2); Median III = Probe 3 (P3)

4.3.2. Relevante Transkripte in der Interventionsgruppe

In **Tabelle 7** wird ersichtlich, dass sich die Mediane von CKLF.1 zwischen allen drei Proben signifikant ($p < 0,05$) unterschieden. Dabei kommt es zunächst zu einem Anstieg und daraufhin zu einem Abfall auf 11,92 ($p < 0,05$). Des Weiteren konnten hier erstmals auch signifikante Unterschiede zwischen den Werten der zweiten und dritten Proben für HLA-B, HLA-F.1 und HLA-H.1. nachgewiesen werden. Die Werte der dritten Probe, also am ersten postoperativen Tag, sind dabei jeweils signifikant im Gegensatz zur zweiten Probe. Signifikante Unterschiede konnten auch zwischen den Medianen aller Proben von IL8 und seinem Replikat IL8.1 gezeigt werden. Die Ergebnisse entsprechen daher denen der Kontrollgruppe. Ein Einfluss der Intervention lässt sich also beim direkten Vergleich nicht feststellen. Beim PTG2.1 wurden zwischen der ersten und zweiten sowie der zweiten und dritten Probe signifikante Unterschiede festgestellt werden. Andere signifikante Unterschiede wurden nicht aufgezeigt. Bemerkenswert ist jedoch, dass das HBZ in der Interventionsgruppe in allen Proben deutlich höhere Werte erzielt als in der Kontrollgruppe. Da keine sonstigen

Einflussfaktoren wirkten, ist dies wahrscheinlich auf die Effekte der Intervention zurück zu führen.

Median und p-Werte der Interventionsgruppe												
Probe 1				Probe 2			Probe 3			P 1/2	P 1/3	P 2/3
Parameter	n	Median I	SD	n	Median II	SD	n	Median III	SD	p-Wert I/II	p-Wert I/III	p-Wert II/III
CKLF.1	5	11,00	0,36	4	12,24	0,13	5	11,92	0,15	<0.05	<0.05	<0.05
HLA-B	5	14,32	0,64	4	13,81	0,21	5	14,28	0,27	0,529	0,517	<0.05
HLA-F.1	5	12,24	0,94	4	11,95	0,26	5	12,40	0,27	0,585	0,544	<0.05
HLA-H.1	5	13,34	0,86	4	13,01	0,26	5	13,34	0,30	0,604	0,559	<0.05
IL8	5	7,79	0,26	4	10,00	0,64	5	7,47	0,23	<0.05	<0.05	<0.05
IL8.1	5	8,87	0,37	4	11,57	0,71	5	7,77	0,19	<0.05	<0.05	<0.05
IL8RB	5	10,47	0,90	4	10,51	0,21	5	10,75	0,68	0,369	0,074	0,107
IL8RBP	5	7,26	0,35	4	7,03	0,20	5	7,29	0,24	0,423	0,493	0,087
PTGS2.1	5	8,10	0,26	4	8,82	0,09	5	8,12	0,03	<0.05	0,407	<0.05
HBZ	5	10,02	0,53	4	9,21	0,82	5	9,04	0,69	0,620	0,065	0,291

Tab. 7 Mediane und p-Werte der Interventionsgruppe

n = Patientenzahl; *SD* = Standardabweichung ; *Median I* = Probe 1 (*P1*); *Median II* = Probe 2 (*P2*); *Median III* = Probe 3 (*P3*)

4.4. Betrachtung der einzelnen Proben

4.4.1. Erste Probe - Kontroll- vs. Interventionsgruppe

Nachdem die Messwerte innerhalb der Kontroll- und Interventionsgruppe auf signifikante Unterschiede überprüft wurden, sollen nun die einzelnen Parameter zwischen der Kontroll- und Interventionsgruppe innerhalb der einzelnen Proben betrachtet werden. Bei der ersten Probe, die unmittelbar nach Narkoseeinleitung, Intervention und vor Beginn der Operation unter HLM stattfand, zeigte sich ein signifikanter ($p = 0,003$) Unterschied von HBZ zwischen der Kontroll- und Interventionsgruppe. Zu diesem Zeitpunkt war die Intervention der einzige Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Der höhere Wert ist daher wahrscheinlich auf die Effekte der ischämischen Fernpräkonditionierung zurück zu führen. Der Median war in der Interventionsgruppe um absolut 2,41 im Vergleich zur Kontrollgruppe höher. Weitere signifikante Unterschiede innerhalb der einzelnen Parameter fielen nicht auf (siehe **Tabelle 8**).

Median und p-Werte Kontroll- vs. Interventionsgruppe Median I					
Parameter	Kontrollgruppe		Interventionsgruppe		p-Wert K/I
	n	Median I	n	Median I	
CKLF.1	7	10,81	5	11,00	0,559
HLA-B	7	14,40	5	14,32	0,407
HLA-F.1	7	13,05	5	12,24	0,162
HLA-H.1	7	13,84	5	13,34	0,208
IL8	7	7,86	5	7,79	0,193
IL8.1	7	8,61	5	8,87	0,829
IL8RB	7	10,59	5	10,47	0,593
IL8RBP	7	7,12	5	7,26	0,982
PTGS2.1	7	8,11	5	8,10	0,539
HBZ	7	7,61	5	10,02	0,003

Tab. 8 Vergleich der ersten Blutentnahme zwischen Kontroll- und Interventionsgruppe

n = Patientenanzahl; Median I = Probe 1 (P1); I = Interventionsgruppe
K = Kontrollgruppe

4.4.2. Zweite Probe - Kontroll- vs. Interventionsgruppe

Die Patientenanzahl der zweiten Probe wurde auf zehn beschränkt, da bei zwei Proben aufgrund fehlender Blutabnahmen keine Hybridisierung stattfand. Die Anzahl der Patienten beträgt demnach in der Kontrollgruppe sechs und in der Interventionsgruppe vier. Die zweite Probe wurden 30min nach Abgang der HLM entnommen. Bei Betrachtung der **Tabelle 9** fielen dabei signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) in CKLF.1, HLA-B, HLA-F.1, HLA-H.1, IL8; PTGS2.1 und HBZ auf. Der Median von CKLF.1 war in der Interventionsgruppe um 0,52 bzw. beim HBZ um 1,55 höher, während er beim HLA-B um 0,63, beim HLA.F.1 um 1,14 und beim HLA-H.1 um 0,9 niedriger war. Des Weiteren war der Median von IL8 um 0,88 in der Interventionsgruppe niedriger im Vergleich zur Kontrollgruppe. Der letzte signifikante Unterschied zeigte sich im Median von PTGS2.1, der in der Interventionsgruppe um 0,55 niedriger war. Andere signifikante Unterschiede wurden nicht nachgewiesen. Ob die Unterschiede auf Effekte der Intervention zurück zu führen sind, kann aufgrund der geringen Gruppenstärke nicht sicher gesagt werden. Auffällig ist jedoch, dass die proinflammatorischen Mediatoren in der Interventionsgruppe z.T. signifikant niedriger sind als in der Kontrollgruppe. Das HBZ ist in der Interventionsgruppe signifikant größer als in der Kontrollgruppe. Ein möglicher Einfluss der Präkonditionierung kann nicht ausgeschlossen werden.

Median und p-Werte Kontroll- vs. Interventionsgruppe Median II					
Parameter	Kontrollgruppe		Interventionsgruppe		p-Wert K/I
	n	Median II	n	Median II	
CKLF.1	6	11,72	4	12,24	<0,05
HLA-B	6	14,44	4	13,81	<0,05
HLA-F.1	6	13,09	4	11,95	<0,05
HLA-H.1	6	13,92	4	13,01	<0,05
IL8	6	10,88	4	10,00	<0,05
IL8.1	6	12,53	4	11,57	0,065
IL8RB	6	10,11	4	10,51	0,223
IL8RBP	6	6,98	4	7,03	0,438
PTGS2.1	6	9,37	4	8,82	<0,05
HBZ	6	7,66	4	9,21	<0,05

Tab. 9 Vergleich der zweiten Blutentnahme zwischen Kontroll- und Interventionsgruppe

n = Patientenzahl; Median II = Probe 2 (P2); I = Interventionsgruppe
K = Kontrollgruppe

4.4.3. Dritte Probe - Kontroll- vs. Interventionsgruppe

Zum letzten Probeentnahmezeitpunkt am Morgen des ersten postoperativen Tages zeigten sich keine signifikanten Unterschiede außer bei HLA-H.1 und HBZ ($p < 0,05$; siehe **Tabelle 10**). Der Median war dabei in der Interventionsgruppe beim HLA-H.1 um 0,61 niedriger. Der Median von HBZ hingegen war im Vergleich zur Kontrollgruppe in der Interventionsgruppe um 1,6 höher. Alle anderen Mediatoren zeigten keine signifikanten Veränderungen und waren in beiden Gruppen nahezu identisch.

Median und p-Werte Kontroll- vs. Interventionsgruppe Median III					
Parameter	Kontrollgruppe		Interventionsgruppe		p-Wert K/I
	n	Median III	n	Median III	
CKLF.1	7	11,69	5	11,92	0,129
HLA-B	7	14,46	5	14,28	0,348
HLA-F.1	7	12,98	5	12,40	0,066
HLA-H.1	7	13,95	5	13,34	< 0,05
IL8	7	7,53	5	7,47	0,278
IL8.1	7	7,96	5	7,77	0,179
IL8RB	7	10,49	5	10,75	0,138
IL8RBP	7	7,34	5	7,29	0,935
PTGS2.1	7	8,06	5	8,12	0,492
HBZ	7	7,44	5	9,04	<0,05

Tab. 10 Vergleich der dritten Blutentnahme zwischen Kontroll- und Interventionsgruppe

n = Patientenzahl; Median III = Probe 3 (P3); I = Interventionsgruppe
K = Kontrollgruppe

4.5. Korrelationen

Nach Ermittlung der Ergebnisse wurde der Einfluss des Alters, der Körpergröße, des Körpergewichtes, der HLM-Bypasszeit, der Aortenklemmzeit und der tiefsten Temperatur auf die Expressionsveränderung der durchschnittlichen Signale (CKLF.1, HLA-B, HLA-F.1, HLA-H.1, IL8, IL8.1, IL8.RB, IL8RBP, PTGS2.1. und HBZ) überprüft. Die detaillierte Beschreibung des Betrages des Korrelationskoeffizienten finden Sie in der statistischen Analyse (siehe **Seite 28**).

4.5.1. Kontrollgruppe – erste Probe

		r_p I_CKLF.1	r_p I_HLA_B	r_p I_HLA_F.1	r_p I_HLA_H.1	r_p I_IL8	r_p I_IL8.1	r_p I_IL8RB	r_p I_IL8RBP	r_p I_PTGS2.1	r_p I_HBZ
Anzahl		n = 7	n = 7	n = 7	n = 7	n = 7	n = 7	n = 7	n = 7	n = 7	n = 7
Alter	Korrelation nach Pearson	,287	,235	,193	,208	,800	,473	,454	-,131	,730	,859
	Signifikanz (2-seitig)	,532	,612	,678	,655	,031	,284	,307	,780	,062	,013
Größe	Korrelation nach Pearson	,303	-,031	-,585	-,536	-,315	-,218	,496	,336	,330	-,222
	Signifikanz (2-seitig)	,509	,948	,168	,215	,492	,639	,258	,461	,470	,632
Gewicht	Korrelation nach Pearson	-,119	,339	,334	,340	,372	,084	-,102	-,218	,439	,526
	Signifikanz (2-seitig)	,799	,457	,464	,456	,411	,858	,828	,639	,324	,225
I_CKLF.1	Korrelation nach Pearson		,645	,290	,360	,484	,829	,824	,829	,740	-,036
	Signifikanz (2-seitig)		,117	,528	,428	,271	,021	,023	,021	,057	,939
I_HLA_B	Korrelation nach Pearson	,645		,791	,791	,281	,570	,403	,566	,495	-,172
	Signifikanz (2-seitig)		,117	,052	,034	,541	,181	,370	,184	,258	,713
I_HLA_F.1	Korrelation nach Pearson	,290	,751		,994	,345	,512	-,028	,107	,056	-,046
	Signifikanz (2-seitig)	,528	,052		,000	,449	,240	,952	,820	,905	,921
I_HLA_H.1	Korrelation nach Pearson	,360	,791	,994		,341	,543	,010	,188	,128	-,076
	Signifikanz (2-seitig)	,428	,034	,000		,455	,208	,983	,687	,785	,871
I_IL8	Korrelation nach Pearson	,484	,281	,345	,341		,820	,602	,061	,598	,790
	Signifikanz (2-seitig)	,271	,541	,449	,455		,024	,152	,897	,156	,035
I_IL8.1	Korrelation nach Pearson	,829	,570	,512	,543	,820		,685	,553	,622	,304
	Signifikanz (2-seitig)	,021	,181	,240	,208	,024		,089	,198	,136	,507
I_IL8RB	Korrelation nach Pearson	,824	,403	-,028	,010	,602	,685		,545	,750	,310
	Signifikanz (2-seitig)	,023	,370	,952	,983	,152	,089		,206	,052	,499
I_IL8RBP	Korrelation nach Pearson	,829	,568	,107	,188	,081	,553	,545		,545	-,439
	Signifikanz (2-seitig)	,021	,184	,820	,687	,897	,198	,206		,205	,325
I_PTGS2.1	Korrelation nach Pearson	,740	,495	,056	,128	,598	,622	,750	,545		,406
	Signifikanz (2-seitig)	,057	,258	,905	,785	,156	,136	,052	,205		,366
I_HBZ	Korrelation nach Pearson	-,036	-,172	-,046	-,076	,790	,304	,310	-,439	,406	
	Signifikanz (2-seitig)	,939	,713	,921	,871	,035	,507	,499	,325	,366	

*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.
 **. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

0	0-0,2 sehr gering	0,2-0,5 gering	0,5-0,7 mittlere	0,7-0,9 hohe	>0,9 sehr hohe
---	-------------------	----------------	------------------	--------------	----------------

Tab. 11 Korrelation Kontrollgruppe des ersten Probe (P1)

Für das Alter konnte bei der ersten Probe in der Kontrollgruppe mit einem Koeffizienten von $r_p = 0,800$ für IL8 ($p = 0,031$) als auch für HBZ mit einem Koeffizienten von $r_p = 0,859$ ($p = 0,013$) eine signifikante hohe Korrelation festgestellt werden, während die hohe Korrelation mit einem Koeffizienten von $r_p = 0,730$ für PTGS2.1 nicht signifikant war. Für Größe und Gewicht konnte eine sehr gering negative bis mittlere positive Korrelation nachgewiesen werden. Für CKLF.1 zeigte sich eine hohe signifikante Korrelation mit IL8 von $r_p = 0,829$ ($p = 0,021$), mit IL8RB von $r_p = 0,824$ ($p = 0,023$) und mit IL8RBP von $r_p = 0,829$ ($p = 0,021$). Eine weitere, jedoch nicht signifikante hohe Korrelation von $r_p = 0,740$ zeigte CKLF.1 mit PTGS2.1. Weiterhin zeigte sich eine hohe signifikante ($p = 0,34$) Korrelation von $r_p = 0,791$ zwischen HLA-B und HLA-H.1. Für HLA-F.1 hingegen konnte eine sehr hohe signifikante ($p = 0,000$) Korrelation von $r_p = 0,994$ mit HLA-H.1 festgestellt werden. Für HLA-H.1 konnten sehr hohe signifikante Korrelationen mit HLA-B von $r_p = 0,791$ ($p = 0,034$) und mit HLA-F.1 von $r_p = 0,994$ ($p = 0,000$) aufgezeigt werden. Für HBZ zeigte sich eine hohe statistische Signifikanz ($p = 0,035$) mit Koeffizienten von $r_p = 0,790$ mit IL8. Die entsprechenden Korrelationskoeffizienten wurden farblich kodiert in **Tabelle 11** dargestellt.

4.5.2. Kontrollgruppe – zweite Probe

		r_p II_CKLF.1 n = 6	r_p II_HLA_B n = 6	r_p II_HLA_F.1 n = 6	r_p I_HLA_H.1 n = 6	r_p II_IL8 n = 6	r_p II_IL8.1 n = 6	r_p II_IL8RB n = 6	r_p II_IL8RBP n = 6	r_p II_PTGS2.1 n = 6	r_p II_HBZ n = 6
Anzahl											
Alter	Korrelation nach Pearson	-,011	-,011	,094	,166	,199	,201	-,062	-,196	,628	,848
	Signifikanz (2-seitig)	,983	,984	,859	,753	,706	,702	,907	,709	,182	,033
Größe	Korrelation nach Pearson	-,246	-,638	-,724	-,799	-,180	-,227	-,586	-,703	-,390	-,243
	Signifikanz (2-seitig)	,639	,173	,104	,056	,733	,666	,222	,119	,444	,642
Gewicht	Korrelation nach Pearson	,543	,258	,248	,355	,537	,713	-,370	,489	,954	,411
	Signifikanz (2-seitig)	,265	,622	,636	,490	,272	,112	,471	,325	,003	,419
HLM_Bypasszeit	Korrelation nach Pearson	,050	-,049	-,270	-,256	-,834	-,722	,790	-,078	-,633	,294
	Signifikanz (2-seitig)	,924	,926	,605	,624	,039	,105	,062	,883	,177	,572
Aortenklammzeit	Korrelation nach Pearson	-,407	-,183	-,277	-,314	-,814	-,875	,770	-,525	-,793	,341
	Signifikanz (2-seitig)	,424	,729	,595	,545	,049	,022	,073	,285	,060	,508
tiefste_Temp	Korrelation nach Pearson	-,151	-,525	-,346	-,326	-,864	-,937	,668	-,301	-,611	,196
	Signifikanz (2-seitig)	,776	,284	,502	,529	,026	,006	,147	,562	,198	,710
II_CKLF.1	Korrelation nach Pearson		-,085	-,274	-,155	-,066	,295	-,268	,738	,428	-,060
	Signifikanz (2-seitig)		,872	,599	,769	,900	,571	,608	,084	,397	,910
II_HLA_B	Korrelation nach Pearson	-,085		,837	,813	,591	,595	,254	,473	,296	,008
	Signifikanz (2-seitig)		,872	,038	,049	,216	,213	,627	,343	,569	,988
II_HLA_F.1	Korrelation nach Pearson	-,274	,837		,988	,675	,520	,288	,400	,421	,032
	Signifikanz (2-seitig)		,599	,038	,000	,142	,290	,580	,432	,405	,952
II_HLA_H.1	Korrelation nach Pearson	-,155	,813	,988		,853	,535	,298	,485	,516	,105
	Signifikanz (2-seitig)		,769	,049	,000	,160	,274	,566	,329	,295	,843
II_IL8	Korrelation nach Pearson	-,066	,591	,675	,653		,919	-,504	,339	,688	-,228
	Signifikanz (2-seitig)		,900	,216	,160		,010	,308	,511	,131	,664
II_IL8.1	Korrelation nach Pearson	,295	,595	,520	,535	,919		-,571	,561	,776	-,201
	Signifikanz (2-seitig)		,571	,213	,290	,274	,010	,237	,247	,009	,702
II_IL8RB	Korrelation nach Pearson	-,268	,254	,288	,298	-,504	-,571		-,032	-,393	,426
	Signifikanz (2-seitig)		,608	,627	,580	,566	,308	,237	,952	,440	,400
II_IL8RBP	Korrelation nach Pearson	,738	,473	,400	,485	,339	,581	-,032		,525	-,246
	Signifikanz (2-seitig)		,094	,343	,432	,329	,511	,247	,952	,285	,638
II_PTGS2.1	Korrelation nach Pearson	,428	,296	,421	,516	,888	,776	-,393	,525		,270
	Signifikanz (2-seitig)		,397	,569	,405	,295	,131	,069	,440	,285	,605
II_HBZ	Korrelation nach Pearson	-,060	,008	,032	,105	-,228	-,201	,426	-,246		,270
	Signifikanz (2-seitig)		,910	,988	,952	,843	,664	,702	,400	,638	,605

**. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.
 *. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

<0	0-0,2 sehr gering	0,2-0,5 gering	0,5-0,7 mittlere	0,7-0,9 hohe	>0,9 sehr hohe
----	-------------------	----------------	------------------	--------------	----------------

Tab. 12 Korrelation Kontrollgruppe der zweiten Probe (P2)

Tabelle 12 zeigt die verschiedenen Korrelationen der Kontrollgruppe der zweiten Probe. Hier konnte eine sehr hohe, signifikante ($p = 0,003$) Korrelation von $r_p = 0,954$ zwischen dem Körpergewicht und PTGS2.1 nachgewiesen werden. Der Einfluss des Gewichtes auf andere untersuchte Parameter war nicht signifikant. Das Alter und die Körpergröße zeigten sehr gering negative bis hohe positive Korrelationen, bei der eine signifikant hohe ($p = 0,033$) Korrelation von $r_p = 0,848$ zwischen dem Alter und HBZ festgestellt wurde. Die HLM-Bypasszeit zeigte eine signifikante ($p = 0,039$), hohe negative Korrelation von $r_p = -0,834$ zu IL8. Auch die hohen negativen Korrelationen zwischen der Aortenklammzeit und IL8 von $r_p = -0,841$ bzw. zwischen Aortenklammzeit und IL8.1 von $r_p = -0,875$ waren signifikant ($p = 0,049$ bzw. $0,022$). Des Weiteren wurde eine signifikant hohe negative Korrelation von $r_p = -0,864$ zwischen tiefster Temperatur und IL8 ($p = 0,026$) und von $r_p = -0,937$ zwischen tiefster Temperatur und IL8.1 ($p = 0,006$) festgestellt. HLA-B wies mit Koeffizienten zwischen $r_p = -0,085$ und $r_p = 0,837$ eine sehr geringe negative bis hohe positive Korrelation mit den gemessenen Parametern auf, bei denen signifikante Korrelationen nur zwischen HLA-B und HLA-

F.1 ($r_p = 0,837$; $p = 0,038$) und zwischen HLA-B und HLA-H.1 ($r_p = 0,813$; $p = 0,049$) zu finden waren. Eine sehr hohe, signifikante ($p = 0,000$) Korrelation von $r_p = 0,988$ wurden zwischen HLA-H.1 und HLA-F.1 nachgewiesen. Eine weitere sehr hohe, signifikante Korrelation zeigte sich zwischen IL8 und IL8.1 ($r_p = 0,919$; $p = 0,010$).

4.5.3. Kontrollgruppe – dritte Probe

		r_p III_CKLF.1 n = 7	r_p III_HLA_B n = 7	r_p III_HLA_F.1 n = 7	r_p III_HLA_H.1 n = 7	r_p III_IL8 n = 7	r_p III_IL8.1 n = 7	r_p III_IL8RB n = 7	r_p III_IL8RBP n = 7	r_p III_PTGS2.1 n = 7	r_p III_HBZ n = 7
Anzahl	Korrelation nach Pearson	-,247	-,362	-,563	-,519	-,084	-,181	,505	-,589	,170	,915
Alter	Signifikanz (2-seitig)	,594	,425	,188	,233	,858	,698	,248	,164	,715	,004
Größe	Korrelation nach Pearson	-,493	-,128	-,150	-,254	-,547	-,504	,225	,448	,547	-,400
	Signifikanz (2-seitig)	,261	,784	,748	,583	,204	,248	,627	,314	,204	,373
Gewicht	Korrelation nach Pearson	-,129	-,147	-,417	-,337	-,402	-,518	-,062	-,357	-,030	,776
	Signifikanz (2-seitig)	,784	,752	,352	,459	,371	,234	,894	,431	,948	,040
HLM_Bypasszeit	Korrelation nach Pearson	,184	-,094	-,045	,002	,480	,634	,345	-,189	,316	-,174
	Signifikanz (2-seitig)	,692	,842	,924	,997	,275	,126	,449	,684	,490	,708
Aortenklammzeit	Korrelation nach Pearson	,037	-,059	,048	,044	,597	,716	,529	-,110	,340	-,178
	Signifikanz (2-seitig)	,937	,900	,919	,926	,157	,070	,222	,814	,456	,703
tiefste_Temp	Korrelation nach Pearson	,587	-,470	-,258	-,291	,422	,715	,044	-,260	-,103	-,247
	Signifikanz (2-seitig)	,166	,287	,576	,527	,345	,071	,925	,574	,826	,594
III_CKLF.1	Korrelation nach Pearson		-,525	-,251	-,253	,249	,485	-,506	-,459	-,773	-,195
	Signifikanz (2-seitig)		,227	,587	,584	,591	,270	,246	,300	,042	,676
III_HLA_B	Korrelation nach Pearson	-,525		,912	,929	,270	,025	-,067	,666	,137	-,127
	Signifikanz (2-seitig)	,227		,004	,002	,558	,958	,887	,102	,769	,785
III_HLA_F.1	Korrelation nach Pearson	-,251	,912		,990	,466	,262	-,133	,588	-,146	-,371
	Signifikanz (2-seitig)	,587	,004		,000	,292	,571	,776	,165	,754	,412
III_HLA_H.1	Korrelation nach Pearson	-,253	,929	,990		,498	,278	-,105	,524	-,134	-,293
	Signifikanz (2-seitig)	,584	,002	,000		,256	,546	,823	,227	,775	,524
III_IL8	Korrelation nach Pearson	,249	,270	,466	,498		,929	,310	-,295	-,324	,075
	Signifikanz (2-seitig)	,591	,558	,292	,256		,002	,499	,521	,478	,873
III_IL8.1	Korrelation nach Pearson	,485	,025	,262	,278	,929		,172	-,330	-,350	-,043
	Signifikanz (2-seitig)	,270	,958	,571	,546	,002		,712	,470	,441	,927
III_IL8RB	Korrelation nach Pearson	-,506	-,067	-,133	-,105	,310	,172		-,378	,543	,348
	Signifikanz (2-seitig)	,246	,887	,776	,823	,499	,712		,403	,208	,444
III_IL8RBP	Korrelation nach Pearson	-,459	,666	,588	,524	-,295	-,330	-,378		,312	-,517
	Signifikanz (2-seitig)	,300	,102	,165	,227	,521	,470	,403		,495	,234
III_PTGS2.1	Korrelation nach Pearson	-,773	,137	-,146	-,134	-,324	-,350	,543	,312		,096
	Signifikanz (2-seitig)	,042	,769	,754	,775	,478	,441	,208	,495		,838
III_HBZ	Korrelation nach Pearson	-,195	-,127	-,371	-,293	,075	-,043	,348	-,517	,096	
	Signifikanz (2-seitig)	,676	,785	,412	,524	,873	,927	,444	,234	,838	

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.
 * Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

<0	0-0,2 sehr gering	0,2-0,5 gering	0,5-0,7 mittlere	0,7-0,9 hohe	>0,9 sehr hohe
----	-------------------	----------------	------------------	--------------	----------------

Tab. 13 Korrelation Kontrollgruppe der dritten Probe (P3)

In Tabelle 13 sind die Korrelationen der Kontrollgruppe der dritten Probe, die am ersten postoperativen Tag entnommen wurde, aufgeführt. Für Alter, Größe und Gewicht konnten hierbei sehr gering negative bis sehr hohe positive Korrelationen nachgewiesen werden, bei der das Alter eine sehr hohe signifikante ($p = 0,004$) Korrelation von $r_p = 0,915$ und das Gewicht eine hohe signifikante ($p = 0,040$) Korrelation von $r_p = 0,776$ zu HBZ zeigte. Weitere signifikante Korrelationen zwischen den o.g. Parametern wurden nicht festgestellt.

Die HLM-Bypass-, die Aortenklammzeit als auch die tiefste intraoperative Temperatur zeigten keine signifikanten Korrelationen mit den untersuchten Parametern. Eine sehr hohe, signifikante Korrelation konnte zwischen HLA-B und HLA-F.1 ($r_p = 0,912$; $p =$

0,004), zwischen HLA-B und HLA-H.1 ($r_p = 0,929$; $p = 0,002$), zwischen HLA-H.1 und HLA-F.1 ($r_p = 0,990$; $p = 0,000$) und zwischen IL8 und IL8.1 ($r_p = 0,929$; $p = 0,002$) nachgewiesen werden. Eine signifikant ($p = 0,042$) hohe, negative Korrelation von $r_p = -0,773$ lag zwischen PTGS2.1 und CKLF.1 vor.

4.5.4. Interventionsgruppe – erste Probe

		r_p _CKLF.1	r_p _HLA_B	r_p _HLA_F.1	r_p _HLA_H.1	r_p _IL8	r_p _IL8.1	r_p _IL8RB	r_p _IL8RBP	r_p _PTGS2.1	r_p _HBZ
Anzahl		n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
Alter	Korrelation nach Pearson	,077	-,442	-,696	-,557	,392	,506	-,506	,077	,200	,522
	Signifikanz (2-seitig)	,902	,456	,191	,329	,514	,385	,385	,902	,747	,367
Größe	Korrelation nach Pearson	,857	,648	,491	,623	,770	,855	,427	,282	,302	,414
	Signifikanz (2-seitig)	,063	,237	,401	,261	,128	,065	,473	,646	,621	,488
Gewicht	Korrelation nach Pearson	,646	,814	,584	,700	,575	,200	,671	,591	-,613	,634
	Signifikanz (2-seitig)	,239	,093	,301	,188	,311	,747	,215	,294	,272	,251
_CKLF.1	Korrelation nach Pearson		,841	,638	,779	,939	,615	,728	,734	,152	,657
	Signifikanz (2-seitig)		,075	,247	,120	,018	,270	,163	,158	,807	,228
_HLA_B	Korrelation nach Pearson	,841		,915	,978	,649	,195	,949	,714	-,126	,415
	Signifikanz (2-seitig)	,075		,029	,004	,236	,753	,014	,175	,841	,487
_HLA_F.1	Korrelation nach Pearson	,638	,915		,976	,351	-,029	,937	,516	,051	,023
	Signifikanz (2-seitig)	,247	,029		,004	,562	,963	,019	,373	,935	,970
_HLA_H.1	Korrelation nach Pearson	,779	,978	,976		,535	,136	,953	,616	,008	,225
	Signifikanz (2-seitig)	,120	,004	,004		,353	,828	,012	,268	,990	,716
_IL8	Korrelation nach Pearson	,939	,649	,351	,535		,687	,523	,749	,084	,842
	Signifikanz (2-seitig)	,018	,236	,562	,353		,200	,365	,145	,894	,073
_IL8.1	Korrelation nach Pearson	,615	,195	-,029	,136	,687		-,060	,033	,360	,457
	Signifikanz (2-seitig)	,270	,753	,963	,828	,200		,923	,958	,552	,439
_IL8RB	Korrelation nach Pearson	,728	,949	,937	,953	,523	-,060		,779	-,080	,298
	Signifikanz (2-seitig)	,163	,014	,019	,012	,365	,923		,120	,898	,626
_IL8RBP	Korrelation nach Pearson	,734	,714	,516	,616	,749	,033	,779		-,186	,729
	Signifikanz (2-seitig)	,158	,175	,373	,268	,145	,958	,120		,764	,163
_PTGS2.1	Korrelation nach Pearson	,152	-,126	,051	,008	,084	,360	-,080	-,186		-,373
	Signifikanz (2-seitig)	,807	,841	,935	,990	,894	,552	,898	,764		,537
_HBZ	Korrelation nach Pearson	,657	,415	,023	,225	,842	,457	,298	,729	-,373	
	Signifikanz (2-seitig)	,228	,487	,970	,716	,073	,439	,626	,163	,537	

*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.
 **. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

<0	0-0,2 sehr gering	0,2-0,5 gering	0,5-0,7 mittlere	0,7-0,9 hohe	>0,9 sehr hohe
----	-------------------	----------------	------------------	--------------	----------------

Tab. 14 Korrelation Interventionsgruppe der ersten Probe (P1)

In **Tabelle 14** werden die einzelnen Korrelationskoeffizienten der Interventionsgruppe der ersten Probe ersichtlich. Für Alter, Körpergröße und -gewicht ließen sich gering negative bis hohe positive Korrelationen von $r_p = -0,696$ bis $r_p = 0,857$ nachweisen, die aber alle nicht statistisch signifikant waren. Eine sehr hohe, signifikante ($p = 0,018$) Korrelation von $r_p = 0,939$ zeigte sich zwischen CKLF.1 und IL8. Des Weiteren waren hohe Korrelationen zwischen HLA-B und HLA-F.1 ($r_p = 0,915$; $p = 0,029$) und zwischen HLA-B und HLA-H.1 ($r_p = 0,978$; $p = 0,004$) zu finden. HLA-B, HLA-F.1 und HLA-H.1 zeigten alle drei eine sehr hohe signifikante Korrelation mit IL8RB ($r_p = 0,949$, $r_p = 0,937$, $r_p = 0,953$; $p = 0,014$, $p = 0,019$, $p = 0,012$). Andere signifikante Korrelationen wurden nicht nachgewiesen.

4.5.5. Interventionsgruppe – zweite Probe

		r_p II_CKLF.1	r_p II_HLA_B	r_p II_HLA_F.1	r_p II_HLA_H.1	r_p II_IL8	r_p II_IL8.1	r_p II_IL8RB	r_p II_IL8RBP	r_p II_PTGS2.1	r_p II_HBZ
Anzahl		n = 4	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4
Alter	Korrelation nach Pearson	-.623	-.694	-.202	-.421	.543	.484	.947	-.202	-.423	.549
	Signifikanz (2-seitig)	.377	.306	.798	.579	.457	.516	.053	.798	.577	.451
Größe	Korrelation nach Pearson	.479	.036	.533	.581	.899	.918	-.057	-.152	.412	.912
	Signifikanz (2-seitig)	.521	.964	.467	.419	.101	.082	.943	.848	.588	.088
Gewicht	Korrelation nach Pearson	.818	.694	.605	.811	.106	.169	-.884	.165	.713	.142
	Signifikanz (2-seitig)	.182	.306	.395	.189	.894	.831	.116	.835	.287	.858
HLM_Bypasszeit	Korrelation nach Pearson	.062	.942	.944	.921	-.133	-.117	-.673	.859	.984	.155
	Signifikanz (2-seitig)	.938	.058	.056	.079	.867	.883	.327	.141	.016	.845
Aortenklemmzeit	Korrelation nach Pearson	.047	.963	.627	.654	-.619	-.596	-.808	.824	.772	-.388
	Signifikanz (2-seitig)	.953	.037	.373	.346	.381	.404	.192	.176	.228	.612
tiefste_Temp	Korrelation nach Pearson	-.490	.614	.825	.633	-.020	-.048	-.116	.911	.752	.319
	Signifikanz (2-seitig)	.510	.386	.175	.367	.980	.952	.884	.089	.248	.681
II_CKLF.1	Korrelation nach Pearson		.186	.086	.365	.256	.324	-.624	-.426	.190	.090
	Signifikanz (2-seitig)		.814	.914	.635	.744	.676	.376	.574	.810	.910
II_HLA_B	Korrelation nach Pearson	.186		.789	.832	-.388	-.359	-.849	.802	.907	-.149
	Signifikanz (2-seitig)	.814		.211	.168	.612	.641	.151	.198	.093	.851
II_HLA_F.1	Korrelation nach Pearson	.086	.789		.956	.197	.208	-.500	.741	.972	.474
	Signifikanz (2-seitig)	.914	.211		.044	.803	.792	.500	.259	.028	.526
II_HLA_H.1	Korrelation nach Pearson	.365	.832	.956		.188	.219	-.690	.602	.975	.404
	Signifikanz (2-seitig)	.635	.168	.044		.812	.781	.310	.398	.025	.586
II_IL8	Korrelation nach Pearson	.256	-.388	.197	.188		.997	.369	-.408	.017	.941
	Signifikanz (2-seitig)	.744	.612	.803	.812		.003	.631	.592	.983	.059
II_IL8.1	Korrelation nach Pearson	.324	-.359	.208	.219	.997		.311	-.423	.039	.930
	Signifikanz (2-seitig)	.676	.641	.792	.781	.003		.689	.577	.961	.070
II_IL8RB	Korrelation nach Pearson	-.624	-.849	-.500	-.690	.369	.311		-.377	-.683	.296
	Signifikanz (2-seitig)	.376	.151	.500	.310	.689	.689		.623	.317	.704
II_IL8RBP	Korrelation nach Pearson	-.426	.802	.741	.602	-.408	-.423	-.377		.764	-.076
	Signifikanz (2-seitig)	.574	.198	.259	.398	.592	.577	.623		.236	.924
II_PTGS2.1	Korrelation nach Pearson	.190	.907	.972	.975	.017	.039	-.683	.764		.281
	Signifikanz (2-seitig)	.810	.093	.028	.025	.983	.961	.317	.236		.719
II_HBZ	Korrelation nach Pearson	.090	-.149	.474	.404	.941	.930	.296	-.076	.281	
	Signifikanz (2-seitig)	.910	.851	.526	.596	.059	.070	.704	.924	.719	

*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.
 **. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

<0	0-0,2 sehr gering	0,2-0,5 gering	0,5-0,7 mittlere	0,7-0,9 hohe	>0,9 sehr hohe
----	-------------------	----------------	------------------	--------------	----------------

Tab. 15 Korrelation Interventionsgruppe der zweiten Probe (P2)

Alter, Körpergröße und Körpergewicht zeigten in **Tabelle 15** mittlere negative bis sehr hohe positive, jedoch nicht signifikante Korrelationen mit den untersuchten Parametern. Bei der HLM-Bypasszeit zeigte sich ein sehr heterogenes Bild. Dabei wurden zum einen sehr gering negative, zum anderen sehr hohe positive Korrelationen festgestellt, bei denen aber nur eine signifikante Korrelation zwischen der HLM-Bypasszeit und PTGS2.1 ($r_p = 0,984$; $p = 0,016$) festgestellt wurde. Sehr geringe negative bis mittlere bzw. hohe negative Korrelationen mit Koeffizienten von $r_p = -0,133$ bis $r_p = -0,808$ konnten zwischen der HLM-Bypass- bzw. Aortenklemmzeit und IL8, IL8.1 und IL8RB aufgezeigt werden, die aber nicht statistisch signifikant waren. Für die Aortenklemmzeit mit Koeffizienten von $r_p = 0,963$ konnte eine sehr hohe, signifikante ($p = 0,037$) Korrelation mit der Expression von HLA-B aufgezeigt werden. Weiterhin zeigten HLA-F.1 und HLA.H.1 sehr hohe, signifikante Korrelationen mit PTGS2.1 ($r_p = 0,972$, $r_p = 0,975$; $p = 0,028$, $p = 0,025$), während für HLA-B keine Signifikanz mit PTGS2.1 festgestellt wurde. Zwischen HLA.F.1 und HLA.H.1 konnte ebenfalls eine sehr hohe Korrelation mit Koeffizienten von $r_p = 0,956$ verzeichnet werden, die statistisch signifikant war ($p = 0,044$). Außerdem zeigte sich eine signifikante ($p = 0,003$)

Korrelation von $r_p = 0,997$ zwischen IL8 und IL8.1. Eine sehr hohe, aber nicht signifikante ($p = 0,059$; $p = 0,070$) Korrelation von $r_p = 0,941$ bzw. $r_p = 0,930$ wurde zwischen HBZ und IL8 bzw. IL8.1. dargestellt. Die entsprechenden Korrelationskoeffizienten wurden farblich kodiert in **Tabelle 15** dargestellt.

4.5.6. Interventionsgruppe – dritte Probe

		r_p III_CKLF.1 n=5	r_p III_HLA_B n=5	r_p III_HLA_F.1 n=5	r_p III_HLA_H.1 n=5	r_p III_IL8 n=5	r_p III_IL8.1 n=5	r_p III_IL8RB n=5	r_p III_IL8RBP n=5	r_p III_PTGS2.1 n=5	r_p III_HBZ n=5
Anzahl											
Alter	Korrelation nach Pearson	,165	-,384	-,497	-,548	,477	,337	,410	,174	-,051	,357
	Signifikanz (2-seitig)	,790	,524	,395	,338	,416	,579	,493	,779	,935	,555
Größe	Korrelation nach Pearson	,117	-,619	,348	,114	,400	,352	-,252	-,395	-,038	,282
	Signifikanz (2-seitig)	,852	,265	,566	,855	,504	,562	,682	,511	,951	,848
Gewicht	Korrelation nach Pearson	,688	-,372	-,274	-,280	,121	,039	-,164	,441	-,752	,742
	Signifikanz (2-seitig)	,199	,538	,656	,648	,846	,950	,793	,458	,142	,151
HLM_Bypasszeit	Korrelation nach Pearson	-,023	-,651	-,137	-,450	-,639	-,728	-,829	,346	-,677	,257
	Signifikanz (2-seitig)	,970	,234	,826	,447	,245	,163	,083	,568	,210	,676
Aortenklammzeit	Korrelation nach Pearson	,058	-,200	-,268	-,380	-,766	-,803	-,625	,554	-,680	,167
	Signifikanz (2-seitig)	,926	,747	,663	,528	,131	,102	,260	,332	,207	,788
tiefste_Temp	Korrelation nach Pearson	-,638	-,540	,303	-,120	-,828	-,844	-,989	-,152	-,120	-,348
	Signifikanz (2-seitig)	,247	,348	,621	,848	,082	,072	,001	,808	,848	,566
III_CKLF.1	Korrelation nach Pearson		,013	-,660	-,386	,575	,480	,564	,659	-,646	,901
	Signifikanz (2-seitig)		,983	,226	,522	,311	,413	,322	,227	,239	,037
III_HLA_B	Korrelation nach Pearson	,013		,191	,601	,109	,273	,557	-,124	,474	-,408
	Signifikanz (2-seitig)	,983		,758	,284	,862	,656	,329	,842	,420	,495
III_HLA_F.1	Korrelation nach Pearson	-,660	,191		,878	-,092	,070	-,334	-,939	,769	-,759
	Signifikanz (2-seitig)	,226	,758		,050	,883	,911	,583	,018	,128	,137
III_HLA_H.1	Korrelation nach Pearson	-,386	,601	,878		,137	,336	,082	-,812	,805	-,679
	Signifikanz (2-seitig)	,522	,284	,050		,826	,580	,896	,095	,100	,208
III_IL8	Korrelation nach Pearson	,575	,109	-,092	,137		,977	,783	-,121	,154	,433
	Signifikanz (2-seitig)	,311	,862	,883	,826		,004	,117	,846	,805	,467
III_IL8.1	Korrelation nach Pearson	,480	,273	,070	,336	,977		,796	-,257	,313	,268
	Signifikanz (2-seitig)	,413	,656	,911	,580	,004		,107	,677	,608	,663
III_IL8RB	Korrelation nach Pearson	,564	,557	-,334	,082	,783	,796		,160	,162	,287
	Signifikanz (2-seitig)	,322	,329	,583	,896	,117	,107		,798	,795	,640
III_IL8RBP	Korrelation nach Pearson	,659	-,124	-,939	-,812	-,121	-,257	,160		-,877	,723
	Signifikanz (2-seitig)	,227	,842	,018	,095	,846	,677	,798		,051	,168
III_PTGS2.1	Korrelation nach Pearson	-,646	,474	,769	,805	,154	,313	,162	-,877		-,823
	Signifikanz (2-seitig)	,239	,420	,128	,100	,805	,608	,795	,051		,087
III_HBZ	Korrelation nach Pearson	,901	-,408	-,759	-,679	,433	,268	,287	,723	-,823	
	Signifikanz (2-seitig)	,037	,495	,137	,208	,467	,663	,640	,168	,087	

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.
 * Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

<0	0-0,2 sehr gering	0,2-0,5 gering	0,5-0,7 mittlere	0,7-0,9 hohe	>0,9 sehr hohe
----	-------------------	----------------	------------------	--------------	----------------

Tab. 16 Korrelation Interventionsgruppe der dritten Probe (P3)

Tabelle 16 stellt die verschiedenen Korrelationen der Interventionsgruppe der dritten Probe dar. Alter, Körpergröße, Körpergewicht, HLM-Bypass- und Aortenklammzeit zeigten sehr gering negative bis hohe positive Korrelationen, die aber alle keine statistischen Signifikanzen aufwiesen. Eine signifikante Korrelation konnte zwischen der tiefsten Temperatur und IL8RB ($r_p = 0,989$; $p = 0,001$) nachgewiesen werden. Außerdem zeigte sich zwischen IL8 und IL8RB mit Koeffizienten von $r_p = 0,977$ eine statistisch, sehr hohe signifikante Korrelation ($p = 0,004$). Zwischen HBZ und CKLF.1 konnte eine weitere sehr hohe, signifikante ($p = 0,037$) Korrelation mit Koeffizienten von $r_p = 0,901$ festgestellt werden.

5. Diskussion

Nach herzchirurgischen Interventionen unter Verwendung einer HLM können häufig postoperative Entzündungsreaktionen beobachtet werden. Dies kann zu schwerwiegenden Komplikationen führen, welche das postoperative Risiko des Versterbens erhöhen können. In der vorliegenden Studie wurden dynamische Transkriptomänderungen unter Verwendung der HLM untersucht und der Einfluss der ischämischen Präkonditionierung auf Veränderungen des Genexpressionsmusters analysiert. Unsere Studie sollte die durch Fernpräkonditionierung hervorgerufenen, biologischen Regulationsprozesse veranschaulichen und eine umfassende Charakterisierung des Transkriptoms vor und nach HLM geben. Die Unterschiede in der Genexpression wurden durch den Vergleich der Gruppen RIPC vs. CTRL für alle drei Zeitpunkte untersucht. Außerdem wurden Proben vor Anschluss des kardiopulmonalen Bypasses analysiert, um den Einfluss der HLM zu untersuchen und einen Einblick in die Regulation zu bekommen. Die Ergebnisse sollen in den folgenden Abschnitten kritisch diskutiert werden.

5.1. Einfluss der HLM auf den Organismus

Der Einsatz der extrakorporalen Zirkulation bei Operationen am offenen Herzen kann zu schwerwiegenden Komplikationen führen, wie zum Beispiel dem Auftreten eines sogenannten „post-pump-syndrome“. Dabei kommt es zu renalen und pulmonalen Dysfunktionen (Massoudy et al. 2001, Chertow et al. 1997), zu vorübergehenden Konzentrations- und Aufmerksamkeitsstörungen, zu Störungen der Feinmotorik und zu Beeinträchtigungen der kognitiven Reaktionsgeschwindigkeit (Jensen et al. 2006, Van Dijk et al. 2002)

Eine häufige Ursache, die zu einem Anstieg des Morbiditäts- und Mortalitätsrisikos nach herzchirurgischen Operationen führt, ist das systemische Entzündungsreaktion-Syndrom (SIRS). In mehreren Studien konnte belegt werden, dass die Verwendung einer extrakorporalen Zirkulation bei herzchirurgischen Interventionen zu einer Aktivierung der inflammatorischen Kaskade führte (Chenoweth et al. 1981, Butler et al. 1993). Die Auslösung dieser Entzündungsreaktion ist Folge des Patientenblutkontaktes mit der Fremdoberfläche der HLM (Kirklin et al. 1983). Zytokine, wie beispielsweise IL-6, wurden sowohl im ON-PUMP als auch im OFF-PUMP-Verfahren gleichermaßen freigesetzt, doch die Aktivierung der

Entzündungsmediatoren erfolgte im OFF-PUMP-Verfahren im geringeren Ausmaß und mit verzögerter Kinetik (Tomic et al. 2005). Diese komplexe Entzündungsreaktion betraf dabei nicht nur das Herz, sondern auch andere Organe wie Gehirn und Niere (Al-Ruzzeh et al. 2003, Laffey et al. 2002). Auch in der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass es zu einer vorübergehenden Veränderung pro- und antiinflammatorischer Genmarker unmittelbar nach Verwendung der HLM kommt. Vor allem Zytokine wie Interferone und Interleukine weisen dabei einen höheren Anstieg in der Kontrollgruppe auf, was auch in anderen Studien belegt werden konnte (Konstantinov et al. 2004). Demzufolge könnten Operationen am Herzen ohne Verwendung eines kardiopulmonalen Bypasses eine geringere Veränderung der Genexpression in Bezug auf eine Entzündungsreaktion bewirken (Ghorbel et al. 2010). Somit sollte die Verwendung der HLM stets kritisch hinterfragt und die Vor- und Nachteile gegeneinander abgewogen werden. So könnten spezifische Komplikationen wie SIRS, post-pump- syndrome vermindert bzw. verhindert und die postoperative Mortalität und Letalität gesenkt werden. In einer randomisierten Studie konnte bereits gezeigt werden, dass das Risiko für das Auftreten von Vorhofflimmern und nachfolgenden Ereignissen wie Tod oder Myokardinfarkt im OFF-PUMP Verfahren minimiert werden konnte (Moller et al. 2008). Weiterhin konnte bereits belegt werden, dass herzchirurgische Eingriffe ohne Verwendung der HLM das Auftreten von SIRS reduziert. Vallely et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass es zu einer verminderten Ausschüttung des proinflammatorischen IL-8 bzw. zu einer abgeschwächten Komplementsystemaktivierung kam und somit das Risiko postoperativer Komplikationen verringert wurde (Vallely et al. 2001).

5.2. Einfluss der ischämischen Fernpräkonditionierung

Die Effekte der ischämischen Fernpräkonditionierung sind bereits in zahlreichen Studien beschrieben wurden. Eine Studie an Mäusen konnte zeigen, dass die ischämische Fernpräkonditionierung die IL-10-Expression und damit einen Schutzsignalweg induziert, der die Infarktgröße minimierte (Cai et al. 2012). Des Weiteren wurde berichtet, dass auch die Aktivierung von STAT5 bei präkonditionierten Patienten zu einer Kardioprotektion führte (Heusch et al. 2012). Eine weitere protektive Auswirkung der ischämischen Präkonditionierung wurde bei Leberteilresektionen festgestellt. Der Anstieg von Transaminasen in vorkonditionierten

Patienten war deutlich geringer im Vergleich zur Kontrollgruppe. Weiterhin könnte die Wirksamkeit der Fernpräkonditionierung vom Alter des Patienten abhängig sein. Von dem Effekt der ischämischen Präkonditionierung könnten insbesondere junge Patienten profitieren, während die Präkonditionierung bei älteren Patienten weniger stark ausgeprägt war (Clavien et al. 2003). Ebenfalls konnte eine positive Wirkung der ischämischen Präkonditionierung in Bezug auf die Nierenfunktion gezeigt werden. Patienten mit einer elektiven Bauchaortenaneurysmaoperation wurden durch Abklemmen der A. iliaca communis präkonditioniert und die Nierenschädigung anhand des Verlaufes der Serumkreatininkonzentration bestimmt. Dabei dokumentierte man bei Patienten der Interventionsgruppe einen geringeren postoperativen Kreatininanstieg, sodass auch hier von einem protektiven Einfluss auf die Niere gesprochen werden kann (Ali et al. 2007, Zimmerman et al. 2011). Dieser Effekt konnte in aktuellen Studien bestätigt werden. Die genauen Mechanismen und die Rolle der verschiedenen Mediatoren bleibt jedoch weiterhin unklar (Zarbock und Kellum 2016). Auch in Bezug auf die pulmonale Situation konnte bereits eine positive Auswirkung der ischämischen Präkonditionierung gezeigt werden. Dafür wurden Patienten einer Kontroll- und Interventionsgruppe zugeteilt und die postoperativen Blutgase verglichen. Bei Patienten der Interventionsgruppe konnte dabei ein besserer Oxygenierungsindex nachgewiesen werden (Min et al. 2016). Die Fernpräkonditionierung scheint auch einen Einfluss auf Veränderungen auf Proteinebene auszuüben. Dieses berichtet eine Studie von Yang et al., in der das kardiale Protein Troponin I bei herzchirurgischen Eingriffen bestimmt wurde. Das Troponin zeigte sechs Stunden postoperativ eine signifikante Verringerung in der Interventionsgruppe, obwohl es keine Unterschiede in Hinblick auf die Mortalität und die Morbidität zwischen den einzelnen Gruppen gab (Yang et al. 2014). Vor diesem Hintergrund kann man davon ausgehen, dass die ischämische Präkonditionierung diverse Effekte auf verschiedene Organsysteme und -funktionen zu haben scheint. Die positiven Effekte der Präkonditionierung könnten somit den Organismus des Patienten im Vorfeld von Extremsituationen wie Herzoperationen, Leberresektionen usw. vorbereiten.

Im klinischen Alltag konnte sich die Methode jedoch bisher nicht durchsetzen. Dies liegt unter anderem an Studien die keinen Nutzen der ischämischen Fernpräkonditionierung zeigen konnten. In tierexperimentellen Untersuchungen an Schweine- und Hundenieren konnte bei einer bewusst herbeigeführten Ischämie nicht

die erhoffte Organprotektion nachgewiesen werden (Behrends et al. 2000, Kosieradzki et al. 2003). Daher stellte man sich die Frage, ob die Präkonditionierung überhaupt einen Nutzen auf den menschlichen Organismus hat. Eine klinische Studie in Großbritannien, die sich mit dem Einfluss der Präkonditionierung bei herzchirurgischen Eingriffen beschäftigte, rekrutierte dazu 1612 Patienten und untersuchte den Einfluss der Fernkonditionierung auf postoperative Ereignisse wie Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall. Die Ergebnisse zwischen der Kontroll- und Interventionsgruppe unterschieden sich dabei nicht signifikant (Hausenloy et al. 2015). Auch eine multizentrische durchgeführte Studie in Deutschland erbrachte keinen relevanten Nutzen der ischämischen Präkonditionierung. Einbezogen wurden dabei 1403 Patienten mit einer elektiven Herzoperation. Betrachtet wurden unter anderem primäre und sekundäre Endpunkte wie Tod, Myokardinfarkt, Nierenversagen, Schlaganfall, Troponin und postoperativ aufgetretenes Vorhofflimmern. Bei dem Vergleich der Kontroll- und Interventionsgruppe 30 und 90 Tage nach der Operation konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (Meybohm et al. 2015). Somit muss der postulierte vielversprechende Nutzen der Organprotektion durch ischämische Präkonditionierung in Frage gestellt werden. In weiteren Studien muss untersucht werden, ob bei spezifischen Konstellationen von Situationen und Bedingungen ein Nutzen erzielbar ist.

In unserer Studie können im Vergleich der Kontroll- und Interventionsgruppe signifikante Unterschiede einzelner Transkripte beobachtet werden. Diese umfassen v.a. Entzündungsmediatoren wie CKLF1., IL-8, IL-8.1. und PTGS2. Insbesondere unmittelbar nach Abgang der HLM kam es zum Anstieg der genannten Zytokine, die sich bis auf CKLF.1 am ersten postoperativen Tag auf beinahe den Ausgangswert zurück reguliert hatten. Das lässt aber die Vermutung nahelegen, dass der Anstieg der Entzündungsmediatoren durch die HLM getriggert sein könnte. Allerdings könnte durch die ischämische Fernpräkonditionierung der Anstieg der inflammatorischen Antwort präkonditionierter Zellen vermindert und damit weniger stark ausgebildet sein (*IL-8* – Anstieg RIPC 2,21, *IL-8*-Anstieg CTRL 3,02; *PTGS2.1* Anstieg RIPC 0,72, *PTGS2.1* Anstieg CTRL 1,26). Ähnliche Ergebnisse zeigte eine Studie von Oehmann et al. (Oehmann et al. 2007).

5.3. HBZ als möglicher Indikator einer erfolgreichen Präkonditionierung

Während die ischämische Fernpräkonditionierung Auswirkungen auf die ribosomalen Änderungen zu haben scheint, sind wir nicht in der Lage, jeden einzelnen Mechanismus als Motor für die langfristige Stressreaktion, was zum Beispiel Hämoglobin zeta (HBZ) sein könnte, zu identifizieren. HBZ ist ein stark sauerstoffaffiner, embryonaler und fetaler Hämoglobintyp, der während der Schwangerschaft Sauerstoff durch die Plazenta zum Fötus transportiert. Codiert wird das Protein beim Menschen durch das HBZ-Gen (Higgs et al. 1989). Das zeta-Globin-Polypeptid wird im Dottersack des Embryos produziert und ist Teil des humanen alpha-globin-Gen-Clusters, das fünf funktionale Gene und zwei Pseudogene beinhaltet (He et al. 2014, Aschauer et al. 1981). Chui et al. zeigten eine veränderte HBZ-Genexpression bei Vorliegen einer haploiden α -Thalassämie und sahen HBZ als möglichen Indikator für das Vorliegen einer α -Thalassämie (Chui et al. 1986). Auch konnte das eigentlich nur während der embryonalen Phase exprimierte HBZ in Retikulozyten gesunder Erwachsener nachgewiesen werden (Albitar et al. 1989). Auch in unserer Studie konnte HBZ bei Adulten nachgewiesen werden. Beim Vergleich der Kontroll- und Interventionsgruppe konnten signifikante Unterschiede der Genexpression des HBZ zu allen drei Blutentnahmezeitpunkten festgestellt werden. Bereits nach erfolgter Präkonditionierung war der Medianwert der Interventionsgruppe höher als in der Kontrollgruppe (RIPC 10,02; CTRL 7,61). Nach Abgang der HLM zeigte sich ein leichter Anstieg des HBZ-Expression in der Kontrollgruppe (CTRL-Anstieg um 0,04), während sich in der fernkonditionierten Gruppe ein Abfall beobachten ließ (RIPC-Abfall um 0,81). Auch am ersten postoperativen Tag waren die Medianwerte in beiden Gruppen unterhalb des Ausgangswertes. Der Medianwert der Interventionsgruppe war dabei deutlich geringer als in der Kontrollgruppe im Vergleich zum Ausgangswert (RIPC Abfall um 0,98, CTRL Abfall um 0,17). Die gefundenen Veränderungen könnten bedingt sein durch die Tatsache, dass die ischämische Konditionierung einen zusätzlichen Stressfaktor für den Organismus zum eigentlichen körperlichen Stress, der vor einer Operation entsteht, darstellt und es somit zu einem initialen Anstieg des HBZ in der RIP-Gruppe kommt. Weiterhin legen die Ergebnisse nahe, dass die Fernpräkonditionierung im Nachhinein das Stresspotential für den Organismus durch die HLM und den operativen Eingriff reduziert. Bezüglich der Relevanz von HBZ als Sauerstoffträger konnte in einer Studie von He et al. gezeigt werden, dass der Austausch von menschlichen Zeta-Globin für Human-alpha-Globinketten die Sauerstoffbindungsaffinität erhöht und die pH-abhängige

Verschiebung in der Sauerstoffgleichgewichtskurve reduziert (He et al. 2000). Letztlich können aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie keine eindeutigen Aussagen über den tatsächlichen Einfluss und eventuelle Vor- oder Nachteile eines durch die ischämische Präkonditionierung bedingten HBZ-Anstiegs gemacht werden. Das HBZ scheint jedoch einen durch die Intervention hervorgerufenen zusätzlichen Stress zuverlässig anzeigen zu können. Dabei ist es, in Bezug auf die HLM, weniger starken Einflüssen als die anderen betrachteten Entzündungsmediatoren unterzogen. Welche klinische Bedeutung dies letztendlich hat, muss in Studien mit einem größeren Patientenkollektiv und detaillierter Fragestellung geklärt werden.

5.4. Einfluss äußerer Faktoren auf die Präkonditionierung

In unsere Studie wurden verschiedene Patienten integriert, die sich einer herzchirurgischen Operation im ON-PUMP-Verfahren unterzogen. Dabei wurden äußere Einflussfaktoren wie das Alter, das Geschlecht oder auch Nebenerkrankungen wie ein vorliegender Diabetes mellitus, nicht berücksichtigt und demzufolge nicht ausreichend betrachtet. In anderen Studien wurde bereits die Vermutung geäußert, dass insbesondere jüngere Patienten vom Effekt der ischämischen Präkonditionierung profitieren könnten (Clavien et al. 2003). Insbesondere zeigten sich in unserer Studie bei Betrachtung beider Gruppen mittlere bis sehr hohe Korrelationen zwischen dem Alter und IL-8, PTGS2.1. und HBZ. Die einzige statistisch signifikante Korrelation wurde aber nur in der Kontrollgruppe zwischen dem Alter und HBZ gefunden. Da unsere rekrutierten Probanden überwiegend 50 Jahre und älter waren, könnte man mutmaßen, dass der Erfolg der Präkonditionierung in der Interventionsgruppe geringer ausfallen könnte. Insbesondere Frauen suchen erst im höheren Alter einen Arzt auf und unterziehen sich demzufolge später einem chirurgischen Verfahren (Gardner et al. 1985, Rahimtoola et al. 1993). Das Geschlecht unserer Probanden könnte einen weiteren unabhängigen Einflussfaktor auf die Präkonditionierung darstellen. In mehreren Studien konnte belegt werden, dass Frauen mit kardiopulmonalen Eingriffen ein höheres perioperatives Komplikationsrisiko hatten (Abramov et al. 2000, Fisher et al. 1982, Edwards et al. 1998). Das erhöhte perioperative Risiko für Frauen geht einher mit einer erhöhten postoperativen Letalität. Dieses muss natürlich nicht zwangsweise mit dem Geschlecht assoziiert sein, sondern könnte auch an der kleineren Körperoberfläche und vermehrt aufgetretenen Begleiterkrankungen im Alter liegen

(Rahimtoola et al. 1993, Christakis et al. 1995). Die positive Wirkung der Präkonditionierung auf die Sterblichkeit könnte sich demzufolge auch stärker bei Frauen bemerkbar machen, sodass deren Risiko an einem intraoperativen Myokardinfarkt zu versterben, reduziert werden könnte. Da in unserer Studie mit insgesamt 12 Patienten nur drei Frauen eingeschlossen wurden, lässt dies keine abschließende Beurteilung zu, zumal das Geschlecht in unsere Betrachtung nicht mit einbezogen wurde.

Bei einem Großteil von Patienten, die sich einer Operation unterziehen, spielt auch das Körpergewicht eine Rolle. Man geht heutzutage davon aus, dass das Gewicht als Risikofaktor für postoperative Komplikationen von Bedeutung ist. Von Übergewicht spricht man ab einem BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$. Man konnte jedoch in zahlreichen Studien belegen, dass Patienten mit Adipositas keinem postoperativ erhöhten Komplikationsrisiko unterlagen. Fettleibige Patienten unterzogen sich dabei Operationen am Herzen. Betrachtet wurden u.a. das Risiko für Tod, perioperative Myokardinfarkte, die Nierenfunktion und die Krankenhausverweildauer. Dabei konnte gezeigt werden, dass Fettleibigkeit nicht mit einem erhöhten Ereignis der o.g. Faktoren einhergeht und eher untergewichtige Patienten einem erhöhten Risiko ausgesetzt waren (Dindo et al. 2003, Reeves et al. 2003). In Bezug auf postoperative Entzündungen konnte bei Adipösen eine verstärkte Aktivierung des inflammatorischen Signalweges und damit ein höheres Auftreten von Wundinfektionen nachgewiesen werden (Ranucci et al. 1999, Caslin et al. 2016, Spoto et al. 2014). Da auch in unserer Studie der überwiegende Teil der Patienten unter Fettleibigkeit litten, könnte man davon ausgehen, dass diese ein erhöhtes Risiko für postoperative Infektionen haben könnten. Bei Betrachtung der Korrelationen fiel nur in der Kontrollgruppe eine Signifikanz zwischen dem Gewicht und PTGS2.1. und HBZ auf. Andere untersuchte Entzündungsmediatoren wie CKLF.1 und IL-8 zeigten weder in der Kontroll- noch in der Interventionsgruppe signifikante Ergebnisse. Daher könnte man annehmen, dass die präkonditionierten Patienten weniger Entzündungsmediatoren ausschütten und demzufolge postoperative Komplikationen in Hinblick auf Infektionen geringer ausfallen könnte. Die Entzündungsreaktion muss nicht durch den gesteigerten BMI unserer Probanden getriggert sein, sondern kann prinzipiell auch durch die HLM bzw. HLM-Bypasszeit hervorgerufen sein. Nur in der zweiten Blutentnahme unserer Pilotstudie ließen sich signifikante Ergebnisse sowohl in der Kontroll- als auch der Interventionsgruppe aufweisen. Die statistische Signifikanz in der Kontrollgruppe

zeigte sich zwischen der HLM-Bypasszeit und IL-8, in der Interventionsgruppe zwischen der HLM-Bypasszeit und PTGS2.1. Weitere statistisch signifikante Ergebnisse zeigten sich auch am ersten postoperativen Tag nicht mehr. Dies lässt vermuten, dass insbesondere die Dauer der HLM einen Einfluss auf das postoperative Entzündungsgeschehen zu haben scheint. Diese These kann durch viele Arbeiten untermauert werden, die berichten, dass die Dauer des HLM-Einsatzes mit einer erhöhten Ausschüttung an Zytokinen einhergeht (Deng et al. 1996, Ito et al. 1997, Saatvedt et al. 1995). Außerdem könnte man annehmen, dass die starke Entzündungsreaktion, die durch die HLM verursacht wird, den Effekt der Präkonditionierung verschleiern könnte. Auch die Aortenklammzeit könnte einen Einfluss auf die Entzündungsreaktion ausüben. Zu beobachten waren in der vorliegenden Studie statistisch signifikante Ergebnisse zwischen der Aortenklammzeit und IL-8 bzw. dessen Replikat in der Kontrollgruppe. Dieses wurde aber nur unmittelbar nach Abgang der HLM zu beobachten, während andere statistische Signifikanzen nicht aufgezeigt werden konnten. Die Dauer der Aortenklammzeit könnte demnach auch eine Wirkung auf die Entzündungskaskade ausüben. Hennein et al. bestätigen diese Theorie und gehen von einer höheren proinflammatorischen Zytokinproduktion durch eine längere Aortenklammzeit aus (Hennein et al. 1994). Auch andere Studien belegen, dass das Ausmaß der Zytokinfreisetzung von der Dauer der Ischämie abhängt (Antonelli et al. 1999, Hasper et al. 1998). Man muss demnach Überlegungen anstellen, ob auch die Aortenklammzeit den vorteilhaften Nutzen der Präkonditionierung verdecken könnte.

5.5. Mögliche Fehlerquellen

Im folgenden Abschnitt sollen das Design und die Ergebnisse der vorliegenden Studie kritisch hinterfragt und eventuelle Lösungsansätze für nachfolgende Studien und Fragestellungen diskutiert werden. Die vorliegende Studie ist eine kleine Pilotstudie als Teil der großen RIP-Heart Studie. Dementsprechend gab es enge Ein- und Ausschlusskriterien. So konnten schließlich nur insgesamt 12 Patienten auf eine Interventions- und Kontrollgruppe randomisiert werden. Weiterhin wurden bei der zweiten Blutentnahme zwei Proben nicht gewonnen. Die relativ kleine Probandenzahl lässt keine statistisch sauberen Ergebnisse zu. Des Weiteren unterschieden sich die biometrischen Parameter der wenigen Probanden z.T. deutlich voneinander. Bei

Betrachtung der verschiedenen Korrelationen fielen verschiedene Abhängigkeiten der Messergebnisse von z.B. Geschlecht, der HLM- Zeit und den jeweiligen Konstitutionstypen der Probanden auf. Dies sind alles Einflussfaktoren, die bei der statistischen Analyse nicht ausreichend berücksichtigt werden konnten. So konnten keine ausreichend großen und homogenen, d.h. gut vergleichbare Probandenkollektive zusammengestellt werden. Dies könnte dazu geführt haben, dass eventuelle Effekte der Präkonditionierung nicht nur durch die HLM, sondern auch schon durch das relativ heterogene Probandenkollektiv entstanden sind. In nachfolgenden Studien sollte also ein möglichst großes und zugleich heterogenes Patientenkollektiv betrachtet werden. So sollten die Ergebnisse besser vergleichbar sein. Als weitere mögliche Einflussfaktoren sind die Blutabnahmen zu betrachten. Hier können eventuelle Kontaminationen, die die Messergebnisse beeinflusst haben könnten, nie vollkommen ausgeschlossen werden. Auch die Lagerung und vor allem die Zeit von der Blutentnahme bis zur Konservierung bzw. Verarbeitung der gewonnenen Probe ist ein potentieller Einflussfaktor. Die Lagerungszeiten wurden nicht dokumentiert. So können Schäden des Probenmaterials nicht ausgeschlossen werden. Hier sollte in künftigen Arbeiten auf ein genaues Zeitmanagement geachtet werden. Auch das Umpipettieren und die Verarbeitung des Materials aus dem Serumröhrchen könnten die Ergebnisse durch Zerfall und Kontamination der Mediatoren beeinflusst haben. Zur Sicherstellung des Gütekriteriums Objektivität wurde auf eine größtmögliche Standardisierung bei der Erfassung und Auswertung der Daten geachtet. Aufgrund der Vielzahl an mitwirkenden Personen können hier Fehler nicht ausgeschlossen werden. Um präanalytische Fehler zu minimieren, erfolgte die Aufarbeitung der Blutproben nach Herstellerangaben. Ein anderer kritisch zu betrachtender Punkt ist die Dauer der Präkonditionierung. In der vorliegenden Studie erfolgte die Präkonditionierung bzw. Intervention kurz vor Anschluss der HLM für insgesamt 40 Minuten. In nachfolgenden Studien sollten Patientengruppen gebildet werden, in denen verschieden lange Interventionen durchgeführt werden. Auch der Abstand des Beginns der Intervention vom Beginn der Operation sollte betrachtet werden. So wäre es denkbar, dass z.B. die gesamte Situation für den Patienten eine ungeheure Belastung darstellt. Dies allein sowie die Vielzahl an Untersuchungen und Stressereignissen im Vorfeld der Operation könnte zu einer Aktivierung von Mediatoren führen. Ein anderer Punkt sind die Früh- und Späteffekte der ischämischen Präkonditionierung. Die letzte Blutentnahme erfolgte in dieser Studie am Morgen des

ersten postoperativen Tages. Somit konnten lediglich Früheffekte der Intervention detektiert werden. In nachfolgenden Studien sollten daher noch weitere Blutentnahmen z.B. bis zu einer Woche nach der Operation durchgeführt werden. So könnten auch mögliche Späteffekte aufgedeckt und in ihrer Dynamik beurteilt werden. Des Weiteren sollte in jedem Fall auch eine Blutentnahme im „Ruhezustand“ d.h. vor jeglicher Intervention durchgeführt werden.

Es gibt also eine Fülle an möglichen Einflussfaktoren, die in kommenden Arbeiten und Überlegungen berücksichtigt werden sollten. In der vorliegenden Studie stellen diese Einflussfaktoren eine mögliche Ursache für die z.T. wenig aussagekräftigen Ergebnisse dar.

Abschließend konnte in dieser Studie belegt werden, dass bei einer Subgruppe von Patienten der RIP-Heart Studie, HBZ ein möglicher Stressmediator auf die ischämische Präkonditionierung darstellen könnte. Im Vergleich dazu konnte die RIP-Heart-Studie keine Unterschiede in Bezug auf die primären Endpunkte wie beispielsweise jeder neu aufgetretene Myokardinfarkt oder ein akutes Nierenversagen aufweisen (Meybohm et al. 2015).

6. Schlussfolgerung

In der vorliegenden Pilotstudie konnten verschiedene spezifische Genexpressionsmuster für die ischämische Fern-Präkonditionierung (RIPC) unter realen klinischen Bedingungen gegenüber einer nicht präkonditionierten Kontrollgruppe identifiziert werden. Dabei deutete die veränderte Dynamik verschiedener ribosomaler Funktionen nach der HLM auf den Einfluss der ischämischen Fern-Präkonditionierung hin. HBZ konnte sowohl als früher, als auch als nachhaltig beeinflusster Mediator von Stresseffekten identifiziert werden. Neben dem HBZ konnten noch weitere potentiell durch die ischämische Fern-Präkonditionierung beeinflussbare Mediatoren (CKLF1, HLA-B, HLA-F.1, HLA-H.1, IL8, IL8.1, IL8RB, IL8RBP, PTGS2.1, STAT 1) identifiziert werden. Die unterschiedlich hohen Konzentrationen von an Stressreaktionen beteiligten Mediatoren, einschließlich eines erniedrigten Interferonspiegels, deuten auf Unterschiede in der entzündlichen Belastung zwischen vorkonditionierten Patienten und den Patienten in der Kontrollgruppe während der HLM hin. Zusammenfassend legen die Ergebnisse nahe, dass sich Patienten nach einer durchgeführten ischämischen Fern-Präkonditionierung besser an nachfolgende Stressreaktionen z.B. in Form von verschiedenen kardialen Operationen unter Verwendung einer Herzlungenmaschine anpassen können. Diese Ergebnisse müssen jedoch in einer weiteren Studie mit einer deutlich größeren Patientenkohorte als in der hier vorliegenden Pilotstudie bestätigt werden. Weiterhin sollten Blutentnahmen sowohl vor Durchführung der Intervention als auch an mehreren postoperativen Tagen durchgeführt werden. So könnten auch eventuelle Späteffekte der Intervention erfasst werden. Zusätzlich sollte darüber nachgedacht werden, ob die Interventionsdauer und -intervalle verlängert werden sollten. Zusammenfassend konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass es eine große Gruppe von Transkripten gibt, bei der die ischämische Fernpräkonditionierung eine Wirkung auf die Genexpression hat. Diese Veränderungen der Genexpression sind nicht allein durch den Einsatz der HLM, sondern auch durch den Effekt der ischämischen Fernpräkonditionierung erklärbar. Dies muss in nachfolgenden Studien unter Berücksichtigung der o.g. Hinweise untersucht werden.

7. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Abramov D, Tamariz MG, Sever JY, Christakis GT, Bhatnagar G, Heenan AL, Goldman BS, Fremes SE. 2000. The influence of gender on the outcome of coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg*, 70 (3):800-805; discussion 806.
- Abu-Amara M, Yang SY, Quaglia A, Rowley P, Tapuria N, Seifalian AM, Fuller BJ, Davidson BR. 2011. Effect of remote ischemic preconditioning on liver ischemia/reperfusion injury using a new mouse model. *Liver Transpl*, 17 (1):70-82.
- Al-Ruzzeh S, Nakamura K, Athanasiou T, Modine T, George S, Yacoub M, Ilsley C, Amrani M. 2003. Does off-pump coronary artery bypass (OPCAB) surgery improve the outcome in high-risk patients?: a comparative study of 1398 high-risk patients. *Eur J Cardiothorac Surg*, 23 (1):50-55.
- Albitar M, Peschle C, Liebhaber SA. 1989. Theta, zeta, and epsilon globin messenger RNAs are expressed in adults. *Blood*, 74 (2):629-637.
- Ali ZA, Callaghan CJ, Lim E, Ali AA, Nouraei SA, Akthar AM, Boyle JR, Varty K, Kharbanda RK, Dutka DP, Gaunt ME. 2007. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial and renal injury after elective abdominal aortic aneurysm repair: a randomized controlled trial. *Circulation*, 116 (11 Suppl):I98-105.
- Antonelli M, Testa G, Tritapepe L, D'Errico RR, Costa D, Giovannelli L, Riccioni L, Gasparetto A, Catena G. 1999. IL-8, IL-6 and ICAM-1 in serum of paediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass with and without cardiocirculatory arrest. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, 40 (6):803-809.
- Arstall MA, Zhao YZ, Hornberger L, Kennedy SP, Buchholz RA, Osathanondh R, Kelly RA. 1998. Human ventricular myocytes in vitro exhibit both early and delayed preconditioning responses to simulated ischemia. *J Mol Cell Cardiol*, 30 (5):1019-1025.
- Asberg AE, Videm V. 2006. Neutrophil dysfunction after biomaterial contact in an in vitro model of cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg*, 30 (5):744-748.
- Aschauer H, Sanguansermisri T, Braunitzer G. 1981. [Human embryonic haemoglobins. The primary structure of the zeta chains (author's transl)]. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, 362 (8):1159-1162.
- Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. 2000. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet*, 25 (1):25-29.
- Asimakopoulos G, Taylor KM. 1998. Effects of cardiopulmonary bypass on leukocyte and endothelial adhesion molecules. *Ann Thorac Surg*, 66 (6):2135-2144.
- Banerjee A, Locke-Winter C, Rogers KB, Mitchell MB, Brew EC, Cairns CB, Bensard DD, Harken AH. 1993. Preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion by an alpha 1-adrenergic mechanism. *Circ Res*, 73 (4):656-670.
- Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, Evangelista C, Kim IF, Tomashevsky M, Marshall KA, Phillippy KH, Sherman PM, Holko M, Yefanov A, Lee H, Zhang N, Robertson CL, Serova N, Davis S, Soboleva A. 2013. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update. *Nucleic Acids Res*, 41 (Database issue):D991-995.

- Beck-Schimmer B, Breitenstein S, Urech S, De Conno E, Wittlinger M, Puhan M, Jochum W, Spahn DR, Graf R, Clavien PA. 2008. A randomized controlled trial on pharmacological preconditioning in liver surgery using a volatile anesthetic. *Ann Surg*, 248 (6):909-918.
- Behrends M, Walz MK, Kribben A, Neumann T, Helmchen U, Philipp T, Schulz R, Heusch G. 2000. No protection of the porcine kidney by ischaemic preconditioning. *Exp Physiol*, 85 (6):819-827.
- Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P. 1999. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation*, 100 (19 Suppl):II340-344.
- Bigelow WG, Callaghan JC, Hopps JA. 1950. General hypothermia for experimental intracardiac surgery; the use of electrophrenic respirations, an artificial pacemaker for cardiac standstill and radio-frequency rewarming in general hypothermia. *Ann Surg*, 132 (3):531-539.
- Bock H. 2003. 45 Jahre erlebte extrakorporale Zirkulation. *Kardiotechnik*.
- Bolli R. 2000. The late phase of preconditioning. *Circ Res*, 87 (11):972-983.
- Borod JC, Haywood CS, Koff E. 1997. Neuropsychological aspects of facial asymmetry during emotional expression: a review of the normal adult literature. *Neuropsychol Rev*, 7 (1):41-60.
- Böttcher W, Merkle F, Weitkemper H. 2003. Historische Entwicklung des kardiopulmonalen Bypasses von der Idee bis zur klinischen Anwendung. *Kardiotechnik*.
- Bretschneider HJ. 1980. Myocardial protection. *Thorac Cardiovasc Surg*, 28 (5):295-302.
- Brown PO, Botstein D. 1999. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays. *Nat Genet*, 21 (1 Suppl):33-37.
- Bruckenberg E. 2010. 22. Herzbericht 2009. Absatz 1:3.
- Bücherl E. 1961. Komplikationen von seiten der Lunge nach extrakorporaler Zirkulation. *Thoraxchirurgie*, 9 (01):058-075.
- Bühl A. 2008. SPSS 16 : Einführung in die moderne Datenanalyse. 11., überarb. und erw. Aufl. Aufl. München [u.a.]: Pearson Studium.
- Butler J, Baigrie RJ, Parker D, Chong JL, Shale DJ, Pillai R, Westaby S, Rocker GM. 1993. Systemic inflammatory responses to cardiopulmonary bypass: a pilot study of the effects of pentoxifylline. *Respir Med*, 87 (4):285-288.
- Cai ZP, Parajuli N, Zheng X, Becker L. 2012. Remote ischemic preconditioning confers late protection against myocardial ischemia-reperfusion injury in mice by upregulating interleukin-10. *Basic Res Cardiol*, 107 (4):277.
- Caslin HL, Franco RL, Crabb EB, Huang CJ, Bowen MK, Acevedo EO. 2016. The effect of obesity on inflammatory cytokine and leptin production following acute mental stress. *Psychophysiology*, 53 (2):151-158.
- Chalet L, Wolf FJ. 1964. The Properties of Streptavidin, a Biotin-Binding Protein Produced by Streptomyces. *Arch Biochem Biophys*, 106:1-5.
- Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW. 1981. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med*, 304 (9):497-503.
- Chertow GM, Lazarus JM, Christiansen CL, Cook EF, Hammermeister KE, Grover F, Daley J. 1997. Preoperative renal risk stratification. *Circulation*, 95 (4):878-884.
- Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J, Holtby HM, Cox PN, Smallhorn JF, Van Arsdel GS, Redington AN. 2006. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning

- on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol*, 47 (11):2277-2282.
- Choi YS, Shim JK, Kim JC, Kang KS, Seo YH, Ahn KR, Kwak YL. 2011. Effect of remote ischemic preconditioning on renal dysfunction after complex valvular heart surgery: a randomized controlled trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 142 (1):148-154.
- Christakis GT, Weisel RD, Buth KJ, Fremes SE, Rao V, Panagiotopoulos KP, Ivanov J, Goldman BS, David TE. 1995. Is body size the cause for poor outcomes of coronary artery bypass operations in women? *J Thorac Cardiovasc Surg*, 110 (5):1344-1356; discussion 1356-1348.
- Chui DH, Wong SC, Chung SW, Patterson M, Bhargava S, Poon MC. 1986. Embryonic zeta-globin chains in adults: a marker for alpha-thalassemia-1 haplotype due to a greater than 17.5-kb deletion. *N Engl J Med*, 314 (2):76-79.
- Clavien PA, Selzner M, Rudiger HA, Graf R, Kadry Z, Rousson V, Jochum W. 2003. A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg*, 238 (6):843-850; discussion 851-842.
- Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM. 1997. Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology*, 86 (3):699-709.
- Cordell AR. 1995. Milestones in the development of cardioplegia. *Ann Thorac Surg*, 60 (3):793-796.
- Cremer J, Martin M, Redl H, Bahrami S, Abraham C, Graeter T, Haverich A, Schlag G, Borst HG. 1996. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg*, 61 (6):1714-1720.
- De Hert SG, ten Broecke PW, Mertens E, Van Sommeren EW, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE. 2002. Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology*, 97 (1):42-49.
- Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH. 1996. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg*, 62 (1):184-190.
- Deng MC, Wiedner M, Erren M, Mollhoff T, Assmann G, Scheld HH. 1995. Arterial and venous cytokine response to cardiopulmonary bypass for low risk CABG and relation to hemodynamics. *Eur J Cardiothorac Surg*, 9 (1):22-29.
- Destatis. 2012. Gesundheit im Alter.
https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Gesundheitszustand/GesundheitimAlter0120006109004pdf;jsessionid=932BFA7CD7B823DC7E050B1D174BA4DBcae4?__blob=publicationFile:2-4.
- Destatis 2015. 17. November. 416 574 Operationen am Herzen wurden im Jahr 2014 durchgeführt
https://www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressemitteilungen/zdw/2015/PD15_047_p002.html.
- Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW, Jr., Herrmann HC, Laskey WK. 1990. Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation*, 82 (6):2044-2051.
- Dindo D, Muller MK, Weber M, Clavien PA. 2003. Obesity in general elective surgery. *Lancet*, 361 (9374):2032-2035.
- Doddakula K, Al-Sarraf N, Gately K, Hughes A, Tolan M, Young V, McGovern E. 2007. Predictors of acute renal failure requiring renal replacement therapy

- post cardiac surgery in patients with preoperatively normal renal function. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 6 (3):314-318.
- Du P, Kibbe WA, Lin SM. 2008. lumi: a pipeline for processing Illumina microarray. *Bioinformatics*, 24 (13):1547-1548.
- Eagle KA, Guyton RA, Davidoff R, Edwards FH, Ewy GA, Gardner TJ, Hart JC, Herrmann HC, Hillis LD, Hutter AM, Jr., Lytle BW, Marlow RA, Nugent WC, Orszulak TA, American College of C, American Heart A. 2004. ACC/AHA 2004 guideline update for coronary artery bypass graft surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1999 Guidelines for Coronary Artery Bypass Graft Surgery). *Circulation*, 110 (14):e340-437.
- Edwards FH, Carey JS, Grover FL, Bero JW, Hartz RS. 1998. Impact of gender on coronary bypass operative mortality. *Ann Thorac Surg*, 66 (1):125-131.
- el Habbal MH, Smith LJ, Elliott MJ, Strobel S. 1997. Cardiopulmonary bypass tubes and prime solutions stimulate neutrophil adhesion molecules. *Cardiovasc Res*, 33 (1):209-215.
- epicentre.com. 2013. TargetAmp™- Nano Labeling Kit for Illumina® Expression BeadChip®
<http://www.epibio.com/docs/default-source/protocols/targetamp---nano-labeling-kit-for-illumina-expression-beadchip-.pdf?sfvrsn=10>
- Feng G, Shaw P, Rosen ST, Lin SM, Kibbe WA. 2012. Using the bioconductor GeneAnswers package to interpret gene lists. *Methods Mol Biol*, 802:101-112.
- Feng J, Bianchi C, Li J, Sellke FW. 2005. Bradykinin preconditioning preserves coronary microvascular reactivity during cardioplegia-reperfusion. *Ann Thorac Surg*, 79 (3):911-916.
- Fisher LD, Kennedy JW, Davis KB, Maynard C, Fritz JK, Kaiser G, Myers WO. 1982. Association of sex, physical size, and operative mortality after coronary artery bypass in the Coronary Artery Surgery Study (CASS). *J Thorac Cardiovasc Surg*, 84 (3):334-341.
- Freeman WM, Robertson DJ, Vrana KE. 2000. Fundamentals of DNA hybridization arrays for gene expression analysis. *Biotechniques*, 29 (5):1042-1046, 1048-1055.
- Garcia C, Julier K, Bestmann L, Zollinger A, von Segesser LK, Pasch T, Spahn DR, Zaugg M. 2005. Preconditioning with sevoflurane decreases PECAM-1 expression and improves one-year cardiovascular outcome in coronary artery bypass graft surgery. *Br J Anaesth*, 94 (2):159-165.
- Gardner TJ, Horneffer PJ, Gott VL, Watkins L, Jr., Baumgartner WA, Borkon AM, Reitz BA. 1985. Coronary artery bypass grafting in women. A ten-year perspective. *Ann Surg*, 201 (6):780-784.
- Gentleman RC, Carey VJ, Bates DM, Bolstad B, Dettling M, Dudoit S, Ellis B, Gautier L, Ge Y, Gentry J, Hornik K, Hothorn T, Huber W, Iacus S, Irizarry R, Leisch F, Li C, Maechler M, Rossini AJ, Sawitzki G, Smith C, Smyth G, Tierney L, Yang JY, Zhang J. 2004. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biol*, 5 (10):R80.
- Ghorbel MT, Cherif M, Mokhtari A, Bruno VD, Caputo M, Angelini GD. 2010. Off-pump coronary artery bypass surgery is associated with fewer gene expression changes in the human myocardium in comparison with on-pump surgery. *Physiol Genomics*, 42 (1):67-75.
- Greten HR, Franz; Greten, Tim. 2010; 13. Auflage. Innere Medizin; Aufbau und Organisation der Immunabwehr.1065.

- Guarracino F, Landoni G, Tritapepe L, Pompei F, Leoni A, Aletti G, Scandroglio AM, Maselli D, De Luca M, Marchetti C, Crescenzi G, Zangrillo A. 2006. Myocardial damage prevented by volatile anesthetics: a multicenter randomized controlled study. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 20 (4):477-483.
- Hall RI, Smith MS, Rocker G. 1997. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg*, 85 (4):766-782.
- Hasper D, Hummel M, Kleber FX, Reindl I, Volk HD. 1998. Systemic inflammation in patients with heart failure. *Eur Heart J*, 19 (5):761-765.
- Hausenloy DJ, Yellon DM. 2008. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*, 79 (3):377-386.
- Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, Ashley E, Vichare S, Di Salvo C, Kolvekar S, Hayward M, Keogh B, MacAllister RJ, Yellon DM. 2007. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet*, 370 (9587):575-579.
- Hausenloy DJ, Candilio L, Evans R, Ariti C, Jenkins DP, Kolvekar S, Knight R, Kunst G, Laing C, Nicholas J, Pepper J, Robertson S, Xenou M, Clayton T, Yellon DM, Investigators ET. 2015. Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery. *N Engl J Med*, 373 (15):1408-1417.
- He Z, Lian L, Asakura T, Russell JE. 2000. Functional effects of replacing human alpha- and beta-globins with their embryonic globin homologues in defined haemoglobin heterotetramers. *Br J Haematol*, 109 (4):882-890.
- He Z, Song D, van Zalen S, Russell JE. 2014. Structural determinants of human zeta-globin mRNA stability. *J Hematol Oncol*, 7:35.
- Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH, Keith FM, Bronstein MH, Leung JM, Mangano DT, Greenfield LJ, Rankin JS. 1994. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 108 (4):626-635.
- Hensel M, Volk T, Docke WD, Kern F, Tschirna D, Egerer K, Konertz W, Kox WJ. 1998. Hyperprocalcitonemia in patients with noninfectious SIRS and pulmonary dysfunction associated with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*, 89 (1):93-104.
- Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. 1995. Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K⁺ channels in cerebral ischemic preconditioning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92 (10):4666-4670.
- Heusch G, Schulz R. 1996. Hibernating myocardium: a review. *J Mol Cell Cardiol*, 28 (12):2359-2372.
- Heusch G, Musiolik J, Kottenberg E, Peters J, Jakob H, Thielmann M. 2012. STAT5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning in humans: short communication. *Circ Res*, 110 (1):111-115.
- Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, Jarman AP, Weatherall DJ. 1989. A review of the molecular genetics of the human alpha-globin gene cluster. *Blood*, 73 (5):1081-1104.
- Hoole SP, Heck PM, Sharples L, Khan SN, Duehmke R, Densem CG, Clarke SC, Shapiro LM, Schofield PM, O'Sullivan M, Dutka DP. 2009. Cardiac Remote Ischemic Preconditioning in Coronary Stenting (CRISP Stent) Study: a prospective, randomized control trial. *Circulation*, 119 (6):820-827.

- Iglesias-Garriz I, Corral F, Rodriguez MA, Garrote C, Montes M, Sevillano E. 2001. Pre-infarction angina elicits greater myocardial viability on reperfusion after myocardial infarction: a dobutamine stress echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol*, 37 (7):1846-1850.
- Ito H, Hamano K, Gohra H, Katoh T, Fujimura Y, Tsuboi H, Esato K. 1997. Relationship between respiratory distress and cytokine response after cardiopulmonary bypass. *Surg Today*, 27 (3):220-225.
- Jensen BO, Hughes P, Rasmussen LS, Pedersen PU, Steinbruchel DA. 2006. Cognitive outcomes in elderly high-risk patients after off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting: a randomized trial. *Circulation*, 113 (24):2790-2795.
- Jin ZQ, Chen X. 1998. Bradykinin mediates myocardial ischaemic preconditioning against free radical injury in guinea-pig isolated heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 25 (11):932-935.
- Julier K, da Silva R, Garcia C, Bestmann L, Frascarolo P, Zollinger A, Chassot PG, Schmid ER, Turina MI, von Segesser LK, Pasch T, Spahn DR, Zaugg M. 2003. Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology*, 98 (6):1315-1327.
- Kardiotechnik KfHuGaUZ. 2010. Kardiotechnik - HLM-Schema. <http://www.herzgefaesschirurgie.usz.ch/HealthProfessionals/herzchirurgie/kardiotechnik/Seiten/default.aspx>, 2010.
- Kaszala K, Vegh A, Papp JG, Parratt JR. 1996. Time course of the protection against ischaemia and reperfusion-induced ventricular arrhythmias resulting from brief periods of cardiac pacing. *J Mol Cell Cardiol*, 28 (10):2085-2095.
- Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. 1997. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology*, 87 (2):361-370.
- Khabar KS, elBarbary MA, Khouqeer F, Devol E, al-Gain S, al-Halees Z. 1997. Circulating endotoxin and cytokines after cardiopulmonary bypass: differential correlation with duration of bypass and systemic inflammatory response/multiple organ dysfunction syndromes. *Clin Immunol Immunopathol*, 85 (1):97-103.
- Kharbanda RK, Peters M, Walton B, Kattenhorn M, Mullen M, Klein N, Vallance P, Deanfield J, MacAllister R. 2001. Ischemic preconditioning prevents endothelial injury and systemic neutrophil activation during ischemia-reperfusion in humans in vivo. *Circulation*, 103 (12):1624-1630.
- Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschtitzky JA, Vogel M, Sorensen K, Redington AN, MacAllister R. 2002. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation*, 106 (23):2881-2883.
- Kilimov N. 1984. Contralateral Reinnervation in Peripheral Facial Palsy. *Fortschritte Der Neurologie Psychiatrie*, 52 (1):15-23.
- Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. 1983. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 86 (6):845-857.
- Kolff WJ, Effler DB, Groves LK, Hughes CR, Mc CL. 1958. Pulmonary complications of open-heart operations: their pathogenesis and avoidance. *Cleve Clin Q*, 25 (2):65-83.

- Konstantinov IE, Arab S, Kharbanda RK, Li J, Cheung MM, Cherepanov V, Downey GP, Liu PP, Cukerman E, Coles JG, Redington AN. 2004. The remote ischemic preconditioning stimulus modifies inflammatory gene expression in humans. *Physiol Genomics*, 19 (1):143-150.
- Kosieradzki M, Ametani M, Southard JH, Mangino MJ. 2003. Is ischemic preconditioning of the kidney clinically relevant? *Surgery*, 133 (1):81-90.
- Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, Fuji H, Oe H, Hori M, Kamada T, Tada M. 1993. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res*, 72 (6):1293-1299.
- Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. 2002. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology*, 97 (1):215-252.
- Landesberg G, Luria MH, Cotev S, Eidelman LA, Anner H, Mosseri M, Schechter D, Assaf J, Erel J, Berlatzky Y. 1993. Importance of long-duration postoperative ST-segment depression in cardiac morbidity after vascular surgery. *Lancet*, 341 (8847):715-719.
- Landow L, Andersen LW. 1994. Splanchnic ischaemia and its role in multiple organ failure. *Acta Anaesthesiol Scand*, 38 (7):626-639.
- Lassnigg A, Schmid ER, Hiesmayr M, Falk C, Druml W, Bauer P, Schmidlin D. 2008. Impact of minimal increases in serum creatinine on outcome in patients after cardiothoracic surgery: do we have to revise current definitions of acute renal failure? *Crit Care Med*, 36 (4):1129-1137.
- Lauterbach G. EM, Lorenz D., Philipp A., Schelkle H.,. 2002. Komponenten der EKZ, In: „Handbuch der Kardiotechnik“, Urban & Fischer, München –Jena, 2002, 4. Auflage, 181-205.
- Li G, Chen S, Lu E, Luo W. 2001. Cardiac ischemic preconditioning improves lung preservation in valve replacement operations. *Ann Thorac Surg*, 71 (2):631-635.
- Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM. 1991. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation*, 84 (1):350-356.
- Lockhart DJ, Dong H, Byrne MC, Follettie MT, Gallo MV, Chee MS, Mittmann M, Wang C, Kobayashi M, Horton H, Brown EL. 1996. Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nat Biotechnol*, 14 (13):1675-1680.
- Lorenz D. EG. 2002. Komponenten der EKZ – Kanülen und Kanülierungsarten. In: „Handbuch der Kardiotechnik“ . Lauterbach G., Erber M., Lorenz D., Philipp A., Schelkle H., Urban & Fischer, München – Jena, 2002, 4. Auflage, 214-220
- Lu JC, Shaw M, Grayson AD, Poullis M, Pullan M, Fabri BM. 2008. Do beating heart techniques applied to combined valve and graft operations reduce myocardial damage? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 7 (1):111-115.
- Massoudy P, Zahler S, Becker BF, Braun SL, Barankay A, Meisner H. 2001. Evidence for inflammatory responses of the lungs during coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Chest*, 119 (1):31-36.
- Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, Baker JB. 1955. Elective cardiac arrest. *Lancet*, 269 (6879):21-22.
- Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, Coburn M, Schaelte G, Boning A, Niemann B, Roesner J, Kletzin F, Strouhal U, Reyher C, Laufenberg-Feldmann R, Ferner M, Brandes IF, Bauer M, Stehr SN,

- Kortgen A, Wittmann M, Baumgarten G, Meyer-Treschan T, Kienbaum P, Heringlake M, Schon J, Sander M, Treskatsch S, Smul T, Wolwender E, Schilling T, Fuernau G, Hasenclever D, Zacharowski K, Collaborators RIS. 2015. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. *N Engl J Med*, 373 (15):1397-1407.
- Min JJ, Bae JY, Kim TK, Kim JH, Hwang HY, Kim KH, Ahn H, Oh AY, Bahk JH, Hong DM, Jeon Y. 2016. Pulmonary Protective Effects of Remote Ischaemic Preconditioning with Postconditioning in Patients Undergoing Cardiac Surgery Involving Cardiopulmonary Bypass: A Substudy of the Remote Ischaemic Preconditioning with Postconditioning Outcome trial. *Heart Lung Circ*, 25 (5):484-492.
- Moller CH, Penninga L, Wetterslev J, Steinbruchel DA, Gluud C. 2008. Clinical outcomes in randomized trials of off- vs. on-pump coronary artery bypass surgery: systematic review with meta-analyses and trial sequential analyses. *Eur Heart J*, 29 (21):2601-2616.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. 1986. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 74 (5):1124-1136.
- Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. 1990. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res*, 66 (4):913-931.
- Norlander O, Pitzele S, Edling I, Norberg B, Crafoord C, Senning A. 1958. Anesthesiological experience from intracardiac surgery with the Crafoord-Senning heart-lung machine. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2 (4):181-210.
- Nöthen M. 2009. Gesundheit auf einen Blick.
https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Gesundheitszustand/BroschuereGesundheitBlick0120011099004pdf?__blob=publicationFile.
- Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF. 1999. Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology*, 91 (3):701-712.
- Oehmann C, Benz S, Drognitz O, Pisarski P, Hopt UT, Obermaier R. 2007. Remote preconditioning reduces microcirculatory disorders in pancreatic ischemia/reperfusion injury. *Pancreas*, 35 (4):e45-50.
- Paparella D, Mickleborough LL, Carson S, Ivanov J. 2003. Mild to moderate mitral regurgitation in patients undergoing coronary bypass grafting: effects on operative mortality and long-term significance. *Ann Thorac Surg*, 76 (4):1094-1100.
- Pietschmann P. 1996. Schonung für das kalte Herz. *Uni Ulm Intern* ;26: 24-29.
- Prasad A, Gossel M, Hoyt J, Lennon RJ, Polk L, Simari R, Holmes DR, Jr., Rihal CS, Lerman A. 2013. Remote ischemic preconditioning immediately before percutaneous coronary intervention does not impact myocardial necrosis, inflammatory response, and circulating endothelial progenitor cell counts: a single center randomized sham controlled trial. *Catheter Cardiovasc Interv*, 81 (6):930-936.
- PreAnalytiX. 2008. PaXgen Blood rna Kit Handbuch. Version 2.
- Rahimtoola SH, Bennett AJ, Grunkemeier GL, Block P, Starr A. 1993. Survival at 15 to 18 years after coronary bypass surgery for angina in women. *Circulation*, 88 (5 Pt 2):II71-78.
- Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightingale P, Gosling P, Townsend P, Townend JN, Green D, Bonser RS. 2010. Remote ischemic

- preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment? *Circulation*, 122 (11 Suppl):S53-59.
- Ramlawi B, Otu H, Rudolph JL, Mieno S, Kohane IS, Can H, Libermann TA, Marcantonio ER, Bianchi C, Sellke FW. 2007. Genomic expression pathways associated with brain injury after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 134 (4):996-1005.
- Ranucci M, Cazzaniga A, Soro G, Morricone L, Enrini R, Caviezel F. 1999. Obesity and coronary artery surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 13 (3):280-284.
- Reeves BC, Ascione R, Chamberlain MH, Angelini GD. 2003. Effect of body mass index on early outcomes in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *J Am Coll Cardiol*, 42 (4):668-676.
- Risnes I, Wagner K, Ueland T, Mollnes T, Aukrust P, Svennevig J. 2008. Interleukin-6 may predict survival in extracorporeal membrane oxygenation treatment. *Perfusion*, 23 (3):173-178.
- Rizvi A, Tang XL, Qiu Y, Xuan YT, Takano H, Jadoon AK, Bolli R. 1999. Increased protein synthesis is necessary for the development of late preconditioning against myocardial stunning. *Am J Physiol*, 277 (3 Pt 2):H874-884.
- Roach GW, Kanchuger M, Mangano CM, Newman M, Nussmeier N, Wolman R, Aggarwal A, Marschall K, Graham SH, Ley C. 1996. Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators. *N Engl J Med*, 335 (25):1857-1863.
- Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C, 3rd. 2000. Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A1 receptors and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology*, 92 (6):1692-1701.
- Rosner MH, Okusa MD. 2006. Acute kidney injury associated with cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol*, 1 (1):19-32.
- Saatvedt K, Lindberg H, Geiran OR, Michelsen S, Aasen AO, Pedersen T, Mollnes TE. 1995. Complement activation and release of tumour necrosis factor alpha, interleukin-2, interleukin-6 and soluble tumour necrosis factor and interleukin-2 receptors during and after cardiopulmonary bypass in children. *Scand J Clin Lab Invest*, 55 (1):79-86.
- Schippers EF, van 't Veer C, van Voorden S, Martina CA, Huizinga TW, le Cessie S, van Dissel JT. 2005. IL-10 and toll-like receptor-4 polymorphisms and the in vivo and ex vivo response to endotoxin. *Cytokine*, 29 (5):215-228.
- Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. 1996. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circ Res*, 78 (6):1100-1104.
- Shi L, Campbell G, Jones WD, Campagne F, Wen Z, Walker SJ, Su Z, Chu TM, Goodsaid FM, Pusztai L, Shaughnessy JD, Jr., Oberthuer A, Thomas RS, Paules RS, Fielden M, Barlogie B, Chen W, Du P, Fischer M, Furlanello C, Gallas BD, Ge X, Megherbi DB, Symmans WF, Wang MD, Zhang J, Bitter H, Brors B, Bushel PR, Bylesjo M, Chen M, Cheng J, Cheng J, Chou J, Davison TS, Delorenzi M, Deng Y, Devanarayan V, Dix DJ, Dopazo J, Dorff KC, Elloumi F, Fan J, Fan S, Fan X, Fang H, Gonzaludo N, Hess KR, Hong H, Huan J, Irizarry RA, Judson R, Juraeva D, Lababidi S, Lambert CG, Li L, Li Y, Li Z, Lin SM, Liu G, Lobenhofer EK, Luo J, Luo W, McCall MN, Nikolsky Y, Pennello GA, Perkins RG, Philip R, Popovici V, Price ND, Qian F, Scherer A, Shi T, Shi W, Sung J, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J, Thodima V, Trygg J, Vishnuvajjala L, Wang SJ, Wu J, Wu Y, Xie Q, Yousef WA, Zhang L, Zhang X,

- Zhong S, Zhou Y, Zhu S, Arasappan D, Bao W, Lucas AB, Berthold F, Brennan RJ, Bunes A, Catalano JG, Chang C, Chen R, Cheng Y, Cui J, Czika W, Demichelis F, Deng X, Dosymbekov D, Eils R, Feng Y, Fostel J, Fulmer-Smentek S, Fuscoe JC, Gatto L, Ge W, Goldstein DR, Guo L, Halbert DN, Han J, Harris SC, Hatzis C, Herman D, Huang J, Jensen RV, Jiang R, Johnson CD, Jurman G, Kahlert Y, Khuder SA, Kohl M, Li J, Li L, Li M, Li QZ, Li S, Li Z, Liu J, Liu Y, Liu Z, Meng L, Madera M, Martinez-Murillo F, Medina I, Meehan J, Miclaus K, Moffitt RA, Montaner D, Mukherjee P, Mulligan GJ, Neville P, Nikolskaya T, Ning B, Page GP, Parker J, Parry RM, Peng X, Peterson RL, Phan JH, Quanz B, Ren Y, Riccadonna S, Roter AH, Samuelson FW, Schumacher MM, Shambaugh JD, Shi Q, Shippy R, Si S, Smalter A, Sotiriou C, Soukup M, Staedtler F, Steiner G, Stokes TH, Sun Q, Tan PY, Tang R, Tezak Z, Thorn B, Tsyganova M, Turpaz Y, Vega SC, Visintainer R, von Frese J, Wang C, Wang E, Wang J, Wang W, Westermann F, Willey JC, Woods M, Wu S, Xiao N, Xu J, Xu L, Yang L, Zeng X, Zhang J, Zhang L, Zhang M, Zhao C, Puri RK, Scherf U, Tong W, Wolfinger RD, Consortium M. 2010. The MicroArray Quality Control (MAQC)-II study of common practices for the development and validation of microarray-based predictive models. *Nat Biotechnol*, 28 (8):827-838.
- Smyth GK. 2004. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. *Stat Appl Genet Mol Biol*, 3:Article3.
- Spoto B, Di Betta E, Mattace-Raso F, Sijbrands E, Vilardi A, Parlongo RM, Pizzini P, Pisano A, Vermi W, Testa A, Cutrupi S, D'Arrigo G, Lonardi S, Tripepi G, Cancarini G, Zoccali C. 2014. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in subcutaneous and visceral fat in severe obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 24 (10):1137-1143.
- Stallwood MI, Grayson AD, Mills K, Scawn ND. 2004. Acute renal failure in coronary artery bypass surgery: independent effect of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 77 (3):968-972.
- Steemers FJ, Gunderson KL. 2005. Illumina, Inc. *Pharmacogenomics*, 6 (7):777-782.
- Steinberg BM, Grossi EA, Schwartz DS, McLoughlin DE, Aguinaga M, Bizakis C, Greenwald J, Flisser A, Spencer FC, Galloway AC, et al. 1995. Heparin bonding of bypass circuits reduces cytokine release during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 60 (3):525-529.
- Symons JA, Myles PS. 2006. Myocardial protection with volatile anaesthetic agents during coronary artery bypass surgery: a meta-analysis. *Br J Anaesth*, 97 (2):127-136.
- Taggart DP, Westaby S. 2001. Neurological and cognitive disorders after coronary artery bypass grafting. *Curr Opin Cardiol*, 16 (5):271-276.
- Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. 1999. Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology*, 91 (5):1437-1446.
- Toller WG, Kersten JR, Gross ER, Pagel PS, Warltier DC. 2000a. Isoflurane preconditions myocardium against infarction via activation of inhibitory guanine nucleotide binding proteins. *Anesthesiology*, 92 (5):1400-1407.
- Toller WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. 2000b. Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate- dependent potassium channels: mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology*, 92 (6):1731-1739.

- Tomic V, Russwurm S, Moller E, Claus RA, Blaess M, Brunkhorst F, Bruegel M, Bode K, Bloos F, Wippermann J, Wahlers T, Deigner HP, Thiery J, Reinhart K, Bauer M. 2005. Transcriptomic and proteomic patterns of systemic inflammation in on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting. *Circulation*, 112 (19):2912-2920.
- Tonnesen E, Christensen VB, Toft P. 1996. The role of cytokines in cardiac surgery. *Int J Cardiol*, 53 Suppl:S1-10.
- Torras J, Herrero-Fresneda I, Lloberas N, Riera M, Ma Cruzado J, Ma Grinyo J. 2002. Promising effects of ischemic preconditioning in renal transplantation. *Kidney Int*, 61 (6):2218-2227.
- Vallely MP, Bannon PG, Kritharides L. 2001. The systemic inflammatory response syndrome and off-pump cardiac surgery. *Heart Surg Forum*, 4 Suppl 1:S7-S13.
- Van Dijk D, Jansen EW, Hijman R, Nierich AP, Diephuis JC, Moons KG, Lahpor JR, Borst C, Keizer AM, Nathoe HM, Grobbee DE, De Jaegere PP, Kalkman CJ, Octopus Study G. 2002. Cognitive outcome after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery: a randomized trial. *JAMA*, 287 (11):1405-1412.
- Wartier DC, Alwathiqui MH, Kampine JP, Schmeling WT. 1988. Recovery of Contractile Function of Stunned Myocardium in Chronically Instrumented Dogs Is Enhanced by Halothane or Isoflurane. *Anesthesiology*, 69 (4):552-565.
- Westaby S. 1983. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *Thorax*, 38 (5):321-325.
- Wilfinger WW, Mackey K, Chomczynski P. 1997. Effect of pH and ionic strength on the spectro-photometric assessment of nucleic acid purity. *Biotechniques*, 22 (3):474-&.
- Wolman RL, Nussmeier NA, Aggarwal A, Kanchuger MS, Roach GW, Newman MF, Mangano CM, Marshall KE, Ley C, Boisvert DM, Ozanne GM, Herskowitz A, Graham SH, Mangano DT. 1999. Cerebral injury after cardiac surgery: identification of a group at extraordinary risk. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group (McSPI) and the Ischemia Research Education Foundation (IREF) Investigators. *Stroke*, 30 (3):514-522.
- Yang L, Wang G, Du Y, Ji B, Zheng Z. 2014. Remote ischemic preconditioning reduces cardiac troponin I release in cardiac surgery: a meta-analysis. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 28 (3):682-689.
- Yehia M, Collins JF, Beca J. 2005. Acute renal failure in patients with pre-existing renal dysfunction following coronary artery bypass grafting. *Nephrology (Carlton)*, 10 (6):541-543.
- Zarbock A, Kellum JA. 2016. Remote Ischemic Preconditioning and Protection of the Kidney--A Novel Therapeutic Option. *Crit Care Med*, 44 (3):607-616.
- Zimmerman RF, Ezeanuna PU, Kane JC, Cleland CD, Kempananjappa TJ, Lucas FL, Kramer RS. 2011. Ischemic preconditioning at a remote site prevents acute kidney injury in patients following cardiac surgery. *Kidney Int*, 80 (8):861-867.

8. Anhang

8.1. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,

- dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,
- dass ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- dass mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:
Herr Prof. Dr. Sebastian N. Stehr, Herr Markus Bläß, Herr Dr. rer. nat. Sandro Lindig
- dass die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,
- dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und
- dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Dresden, 20.09.2017

8.2. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Nora Mühle

Geburtsdatum: 23.02.1984

Geburtsort: Großenhain

Familienstand: ledig, 1 Kind

Schulische Ausbildung:

1990 – 1994 1. Grundschule „Am Bobersberg“ , Großenhain

1994 – 2002 „Werner – von – Siemens – Gymnasium“ Großenhain

15.06.2002 Abitur

Berufliche Ausbildung und beruflicher Werdegang:

01.09.2002 Ausbildungsbeginn zur Gesundheits- und Krankenpflegerin am Universitätsklinikum Carl Gustav Carus der TU Dresden

31.08.2005 examinierte Gesundheits- und Krankenpflegerin

01.09.2005 – 30.09.2009 Krankenschwester in der Anästhesie am Universitätsklinikum Dresden

01.10.2009 Studentin der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller Universität Jena

31.03.2016 Beendigung Studium / Approbation

1.07.2017 - heute Ärztin in Weiterbildung für Allgemeinmedizin

8.3. Danksagung

Ich möchte mich bei allen Beteiligten bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben. Besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. M. Bauer, Direktor der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin des Universitätsklinikums Jena, für die Überlassung des Themas und zahlreichen Anregungen während der Erstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. S. Stehr, Direktor der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin des Universitätsklinikums Leipzig, für die hervorragende Zusammenarbeit, die jederzeitige Kommunikation, zahlreichen Anregungen und die kritische Diskussion, mit der er diese Arbeit begleitete.

Den Ärzten und dem Pflegepersonal der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin des Universitätsklinikums Jena, insbesondere Schwester Ines Funke, für die Unterstützung bei der Rekrutierung der Patienten.

Herrn Markus Bläß, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin Jena, für die Aufbereitung der Blutproben und Durchführung der Genexpressionsanalyse.

Herrn Dr. rer. nat. S. Lindig, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin Jena, für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Meinem Freund, Herrn Dr. med. Maik Sauer, danke ich für die Motivation, die zur Fertigstellung dieser Arbeit beitrug.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglichten und deren uneingeschränkter und bedingungsloser Unterstützung ich mir stets sicher sein konnte.